

FAUCQUEUR Bernard, Louis

LA 5' NUCLEOTIDASE : son dosage sérique et son intérêt clinique

THESE
POUR LE DOCTORAT EN MEDECINE
(Diplôme d'Etat)
PRESENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT
le 4 Juillet 1974

Président du Jury : Mr le Professeur R. PLAQUET



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41545911_0014

- Amiens nat
FAUCQUEUR Bernard, Louis

- Amiens Courbe de Courbe ——— de Beauvais

- Thésaire des certificats d'étude spécialisés de

LA 5' NUCLEOTIDASE :

son dosage sérique et son intérêt clinique

- Et des certificats de l'Université de médecine de biologie humaine de

Biologie générale ———

Biologie et virologie expérimentales.

THESE

POUR LE DOCTORAT EN MEDECINE

(Diplôme d'Etat)

PRESENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT

le 4 Juillet 1974

—————

Président du Jury : Mr le Professeur R. PLAQUET

Cette thèse est présentée par FAUCQUEUR Bernard Louis :

- Ancien externe du Centre Hospitalier d'Amiens

- Ancien interne du Centre Hospitalier de Beauvais

- Titulaire des certificats d'étude spéciaux de :

Biochimie médicale et technique,

Bactériologie médicale et technique,

Immunologie générale,

- Et des certificats de licence ou de maîtrise de biologie humaine de :

Botanique générale,

Bactériologie et virologie systématique.

Ce travail ayant nécessité plus de 850 prélèvements nous tenons à remercier les chefs des services qui nous ont ouvert leurs portes :

- Au centre hospitalier d'Amiens :

Clinique médicale A	Pr A. LORRIAUX
Clinique chirurgicale A	Pr R. STOPPA
Service de Pédiatrie	Pr C. PIUSSAN
Service de gériatrie	Dr P. DÉNOEUX

- Au centre hospitalier de Beauvais :

Service de médecine générale	Dr L. MARIETTE
Maternité	Dr A. MANELLA

L'étude des valeurs normales a été possible grâce à l'obligeance de Mme L. RIBEIL, Directrice du Centre de Transfusion Sanguine d'Amiens, et des donateurs volontaires.

A Mademoiselle G. HENNON,

Assistante des Hôpitaux

Assistante de Faculté.

qui a largement contribué à la réalisation technique
de ce travail.

Nos remerciements les plus sincères vont aux nombreuses infirmières qui ont effectué les ponctions veineuses nécessaires, aux secrétaires qui ont collaboré à cette thèse et aux techniciens de laboratoire qui ont réalisé les différents examens du bilan biologique et en particulier ceux qui ont pratiqué le dosage de la 5' nucléotidase.

A Monsieur le Professeur R. PLAQUET,

Professeur titulaire de la Chaire de Chimie Biologie
Biologiste des Hôpitaux, Chef de Service
Chevalier des Palmes Académiques.

qui a eu l'idée de cette thèse, en particulier de la technique
de dosage utilisée dans ce travail, et qui nous a prodigué les
conseils permettant de mener à bien sa réalisation.

A Monsieur le Professeur R. STOPPA

Professeur titulaire de la Chaire de Clinique Chirurgicale
Chirurgien des Hôpitaux, Chef de Service
Croix de Guerre 1939-1945.

en espérant que la Biologie médicale saura trouver une juste
place au sein des Sciences médicales comme la Chirurgie a
trouvé la sienne par son efficacité.

A Monsieur le Professeur Agrégé J. BAILLET,

Maître de Conférence, Agrégé de Médecine Expérimentale
et Comparée
Médecin des Hôpitaux

en remerciement de l'attention qu'il a pris au déroulement de
ce travail et en souvenir de mes premiers pas dans le dédale
de la Médecine.

ABREVIATIONS COURAMMENT UTILISEES
DANS CE TRAVAIL

ADA	: adénosine déaminase
5'AMP	: acide adénylique ou adénosine monophosphate
Bili.	: bilirubine totale
PA	: phosphatases alcalines
PBF	: ponction - biopsie du foie
Pi	: phosphore inorganique
SGOT	: transaminases glutamo oxalique
SGPT	: transaminases glutamo pyrurique
UB	: unité Bodansky
URF ou UF	: unité Reitman-Frankel
UI	: unité internationale

LA 5 ' NUCLEOTIDASE :

son dosage sérique
et son intérêt clinique.

PLAN

	pages
1. <u>INTRODUCTION</u>	5
2. <u>BASES THEORIQUES</u>	7
21. <u>LES PHOSPHATASES ALCALINES</u>	7
211. <u>Les difficultés de dosage</u>	
212. <u>La pluralité des sources</u>	
213. <u>La difficulté d'interprétation des résultats</u>	
22. <u>LES ISOENZYMES DES PHOSPHATASES ALCALINES</u>	9
221. <u>Généralités</u>	
222. <u>Les méthodes physico-chimiques</u>	
2221. <u>Inactivation par agents chimiques</u>	
2222. <u>Inactivation par la chaleur</u>	
2223. <u>Les méthodes chromatographiques</u>	
2224. <u>Les techniques électrophorétiques</u>	
223. <u>Les méthodes immunologiques</u>	
224. <u>Les méthodes biologiques</u>	
225. <u>Conclusion sur les méthodes de séparation des isoenzymes des PA.</u>	
23. <u>LA 5 ' NUCLEOTIDASE</u>	16
231. <u>Découverte</u>	
232. <u>Localisation</u>	
2321. <u>Répartition dans le monde vivant</u>	
2322. <u>Localisation dans les tissus humains</u>	
2323. <u>Localisation intra-cellulaire</u>	
233. <u>Rôle de la 5 'nucléotidase</u>	
2331. <u>Rôle physiologique</u>	
2332. <u>Rôle en pathologie</u>	
234. <u>Métabolisme de la 5 ' nucléotidase</u>	

235.	<u>Purification de la 5 ' nucléotidase</u>	
2351.	<u>A partir d'extraits tissulaires</u>	
2352.	<u>A partir du sérum</u>	
236.	<u>Propriétés de la 5 ' nucléotidase</u>	
2361.	<u>Le site d'action et la spécificité biochimique</u>	
2362.	<u>pH optimum d'action</u>	
2363.	<u>Activateurs et inhibiteurs de la 5 ' nucléotidase</u>	
237.	<u>Conclusion</u>	
3.	<u>LES METHODES DE MESURE DE L'ACTIVITE SERIQUE DE LA 5 ' NUCLEOTIDASE</u>	27
31.	<u>LES METHODES PREEXISTANTES</u>	31
311.	<u>Description des différentes méthodes de dosage</u>	
3111.	<u>Méthode de Dixon et Purdom</u>	
3112.	<u>Méthode de Young</u>	
3113.	<u>Méthode de Campbell et méthodes dérivées</u>	
3114.	<u>Dosage cinétique en ultra-violet</u>	
3115.	<u>Méthodes utilisant le β-glycérophosphate comme inhibiteur des phosphatases alcalines non spécifiques</u>	
3116.	<u>Les travaux de Persijn</u>	
312.	<u>Réflexion sur ces différentes méthodes de dosage</u>	
3121.	<u>Le dosage de la 5 ' nucléotidase</u>	
3122.	<u>L'inhibition des phosphatases</u>	
3123.	<u>Le dosage final</u>	
3124.	<u>Comparaison des différentes techniques</u>	
313.	<u>Conclusion</u>	
32.	<u>LA METHODE PROPOSEE</u>	39
321.	<u>Principe</u>	
322.	<u>Les différents réactifs utilisés</u>	
323.	<u>Technique</u>	
3231.	<u>Réaction enzymatique</u>	
3232.	<u>Dosage de l'ammoniaque libéré</u>	
324.	<u>Expression des résultats</u>	
325.	<u>Etude critique de la méthode proposée</u>	

4.	<u>ANALYSE DES RESULTATS</u>	44
41.	<u>MATERIEL ET METHODE</u>	44
411.	<u>Recrutement des malades</u>	
412.	<u>Bilan proposé</u>	
413.	<u>Classification par maladie</u>	
414.	<u>Etude statistique</u>	
415.	<u>Répartition des dosages de 5 'N effectués</u>	
42.	<u>TAUX NORMAL ET VARIATIONS PHYSIOLOGIQUES</u>	47
421.	<u>Taux de la 5 'N chez 15 femmes "Donneurs de Sang"</u>	
422.	<u>Taux de la 5 'N chez 69 hommes "Donneurs de Sang"</u>	
423.	<u>Taux chez quelques femmes enceintes</u>	
424.	<u>Taux chez 46 enfants en bas âge</u>	
43.	<u>ETUDE DES RESULTATS OBTENUS DANS DIVERS GROUPES PATHOLOGIQUES</u>	51
431.	<u>Les syndromes de rétention biliaire</u>	
4311.	<u>Les calculs du cholédoque</u>	
4312.	<u>Les ictères par obstruction extra-hépatiques en dehors des lithiases cholédociennes</u>	
4313.	<u>Les hépatites cholostatiques</u>	
432.	<u>Les hépatites</u>	
4321.	<u>Les hépatites virales</u>	
4322.	<u>Hépatites diverses</u>	
4323.	<u>Hépatites chroniques</u>	
433.	<u>Pathologie biliaire et pancréatique</u>	
4331.	<u>Coliques hépatiques</u>	
4332.	<u>Lithiases vésiculaires</u>	
4333.	<u>Autres affections biliaires</u>	
4334.	<u>Affections pancréatiques</u>	
434.	<u>Les éthyliques</u>	
4341.	<u>Petits signes d'éthylisme</u>	
4342.	<u>Ethyliques avec troubles neuro-psychiques</u>	
4343.	<u>Hépatomégalies éthyliques</u>	
4344.	<u>Les cirrhoses</u>	

435.	<u>Affections digestives</u>	
436.	<u>Affections néoplasiques</u>	
4361.	<u>Cancers divers</u>	
4362.	<u>Métastases osseuses</u>	
4363.	<u>Cancers du foie</u>	
4364.	<u>Métastases osseuses et hépatiques</u>	
437.	<u>Les affections osseuses</u>	
4371.	<u>Les osétoporoses</u>	
4372.	<u>Hypovitaminose D</u>	
4373.	<u>Maladie de Paget</u>	
4374.	<u>Affections osseuses diverses</u>	
438.	<u>Miscellanées</u>	
4381.	<u>Affections diverses avec la 5 ' N normale</u>	
4382.	<u>Affections diverses présentant une élévation simultanée</u> <u>des PA et de la 5 'N</u>	
4383.	<u>Affections diverses avec élévation isolée des 5 'N</u>	
44.	<u>Conclusion</u>	99
5.	<u>VALEUR ET PLACE DU DOSAGE DE LA 5 ' NUCLEOTIDASE SERIQUE</u>	103
51.	<u>INTERET DU DOSAGE DE LA 5 ' N POUR L'ETABLISSEMENT DE</u> <u>CERTAINS DIAGNOSTICS</u>	103
511.	<u>Diagnostic d'une hématomèse</u>	
512.	<u>Diagnostic d'un ictère</u>	
513.	<u>Diagnostic d'un syndrome de "rétention anictérique"</u>	
514.	<u>Diagnostic d'une cirrhose</u>	
515.	<u>Diagnostic d'un cancer du foie</u>	
52.	<u>5 ' N, TEST DE SURVEILLANCE</u>	108
521.	<u>Surveillance de l'extension néoplasique</u>	
522.	<u>Surveillance d'une hépatite virale</u>	
523.	<u>Surveillance de la voie biliaire principale</u>	
524.	<u>Surveillance d'une affection osseuse à PA élevées</u>	
525.	<u>Surveillance thérapeutique</u>	
53.	<u>PLACE DU DOSAGE DE LA 5 'N SERIQUE</u>	111
531.	<u>5 ' N et examen systématique</u>	
532.	<u>Les indications du dosage de la 5 'N</u>	
533.	<u>Avenir de la 5 'N</u>	
6.	<u>CONCLUSIONS</u>	114

1. INTRODUCTION

Dès 1929 Kay (98) ouvre la voie de l'enzymologie clinique en montrant une élévation des phosphatases alcalines dans certaines affections osseuses (100) puis l'année suivante montre leur élévation au cours d'ictère par obstruction (99).

En 1933 Roberts (157) propose une classification différentielle des ictères, basée sur le dosage de la bilirubine et sur celui des phosphatases alcalines sériques. Depuis l'intérêt de ce dosage des phosphatases ne s'est jamais démenti. Or, dès cette époque il apparaissait nettement que les phosphatases alcalines appartenaient au moins à deux chapitres de la pathologie et que le clinicien pouvait être embarrassé devant leur augmentation.

On a donc essayé de résoudre ce problème : d'une part en fractionnant l'activité phosphatasique du sérum pour en reconnaître le tissu d'origine, d'autre part en remplaçant le dosage des phosphatases alcalines par celui d'enzymes plus spécifiques telles que la gamma-glutamyl-transpeptidase, la leucine aminopeptidase ou la 5' nucléotidase. Cette dernière ayant également une activité phosphatasique.

Dans ce travail nous nous proposons, après avoir passé en revue les différentes méthodes utilisées pour tenter de séparer, selon le tissu d'origine, les phosphatases alcalines sériques, d'étudier plus particulièrement la 5' nucléotidase (5' N).

Nous rappellerons les connaissances actuelles sur la 5 ' nucléotidase. Nous passerons en revue les différentes méthodes de dosage sérique de cette enzyme existant actuellement et nous proposerons une nouvelle technique semi-automatique de dosage.

Après avoir étudié les différents paramètres de cette technique et en avoir fixé les valeurs physiologiques nous analyserons les résultats d'un certain nombre de dossiers ; tant lors d'affection hépatique ou osseuse que lors de maladies diverses.

Nous chercherons ensuite à évaluer la place de cette détermination enzymatique au sein des explorations hépatiques et les indications de ce dosage en pathologie générale.

2. BASES THEORIQUES

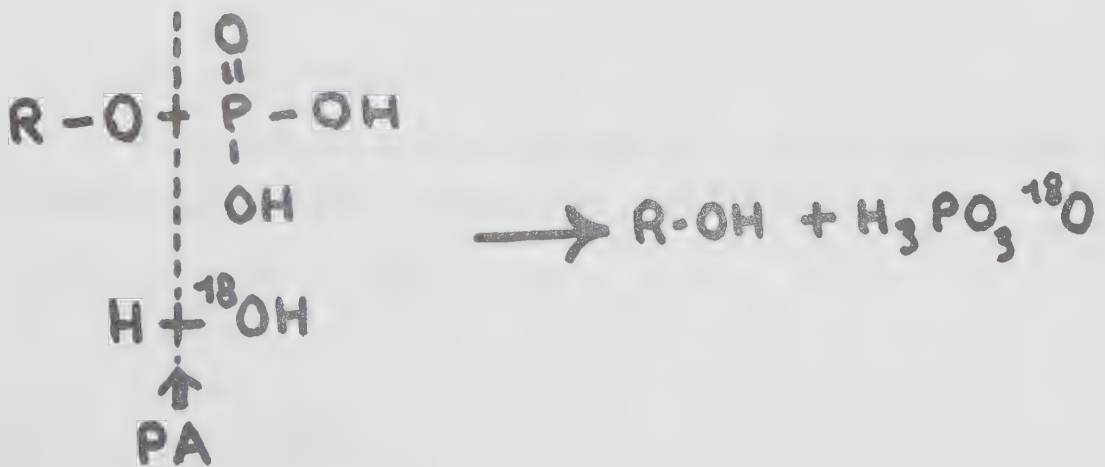
21. LES PHOSPHATASES ALCALINES

211. Les difficultés de dosage

On entend sous la dénomination de phosphatases des enzymes ayant une activité phospho-mono-estérasique. Il existe deux types de phospho-mono-estérases qui se distinguent par le pH auquel leur activité est maximale :

- à pH = 5 : phosphatases acides.
- à pH = 9 : phosphatases alcalines (P. A.).

L'utilisation de substrats marqués à l'oxygène radioactif a permis de situer le niveau de l'hydrolyse :



Il en découle deux grands types de méthodes de mesure de l'hydrolyse enzymatique :

- soit dosage du phosphore inorganique libéré,
- soit dosage du radical R (radical alcoolique ou phénolique).

La théorie laisse prévoir la libération stoechiométrique de phosphore et d'alcool, ou de phénol, en fait, dans le sérum on observe une "perte apparente" de l'ordre de 10 % qui s'explique par la présence d'alcools sériques, accepteurs de phosphore sous l'effet d'une phosphotransférase. Il semble donc préférable de suivre la réaction d'hydrolyse par le dosage du radical R plutôt que par celui du phosphore. La mesure de l'activité phosphatasique alcaline est encore compliquée par le fait :

- que les monoesters utilisés comme substrats sont susceptibles d'être hydrolysés par des phospho-diestérasases sériques,
- que l'ion magnésium se comporte comme un activateur de l'activité phosphatasique,
- et que les hématies ont un taux de phosphatases alcalines six fois plus élevé que celui du sérum.

212. La pluralité des sources

La diversité d'origine des phosphatases s'ajoute aux difficultés de dosage. Les phosphatases alcalines sériques peuvent en effet provenir :

- de l'appareil hépato-biliaire,
- de l'os,
- du rein,
- de l'intestin,

et chez la femme enceinte :

- du placenta

213. La difficulté d'interprétation des résultats

On voit la difficulté qu'il peut y avoir à interpréter une élévation du taux

des phosphatases alcalines sériques, surtout lorsque cette élévation est isolée, étant donné les circonstances variables dans lesquelles les phosphatases alcalines s'élèvent :

- Circonstances physiologiques :

- . la croissance,
- . la grossesse au troisième terme,
- . l'âge avancé.

- Affections hépato-biliaires s'accompagnant d'un syndrome rétionnel avec ou sans ictère.

- Affections osseuses telles que :

- . la maladie de Paget,
- . l'ostéoïdose du rachitisme,
- . l'ostéose hyperparathyroïdienne,

alors que le taux des phosphatases alcalines est normal dans l'ostéoporose.

Dans la littérature les phosphatases alcalines sont parfois désignés par les sigles : P. A., A. P et AL. P en langue anglaise ; la terminologie internationale est EC : 3. 1. 3. 1. Nous utiliserons l'abréviation : P. A.

22. LES ISOENZYMES DES PHOSPHATASES ALCALINES

221. Généralités

Devant les difficultés d'interprétation d'un taux élevé de phosphatases alcalines de nombreuses méthodes tentent d'en déterminer le tissu d'origine. Si les essais de Kay (100) pour distinguer les P. A. obtenues à partir de différents tissus furent un échec, ceux de Bodansky utilisant les propriétés tensio-actives des sels biliaires (22) ouvrent la voie à une différenciation valable. Néanmoins, il faut attendre le concept d'isoenzyme introduit par Markert et Moller en 1959 (119) pour que de nombreux auteurs cherchent à séparer dans le sérum les activités des P. A. des diverses origines. On essaie ainsi de séparer des P. A. dont les propriétés catalytiques appréciées globalement au laboratoire sont identiques mais dont les structures moléculaires supposées différentes leur confèrent

des propriétés physico-chimiques distinctes. Cette différenciation n'a d'ailleurs d'intérêt que si l'on attribue une spécificité biologique à chaque structure moléculaire présumée. Nous allons passer en revue quelques unes de ces méthodes.

222. Les méthodes physico-chimiques

2221. Inactivation par agents chimiques

La méthode utilisant la précipitation par le chloroforme des et globulines fut un échec (71), le fractionnement par l'éthanol n'est guère plus heureux (136).

Par contre, l'utilisation de la L-phénylalanine par Fishman montre à cet auteur dès 1963 (56) que les P. A. d'origine intestinale sont inhibées par cet acide aminé ; ce qui lui permit par la suite d'établir une théorie de l'origine intestinale des P. A. sériques (54). Cette théorie est d'ailleurs loin de faire l'unanimité (190, 192).

La technique de Fishman utilise comme substrat un phényl-phosphate et le phénol libéré réagit colorimétriquement avec le réactif de Powel et Smith (aminoantipyrine-ferricyanure alcalin) ; une technique automatique a été décrite (55). Cette méthode à la phénylalanine semble satisfaisante pour évaluer par différence les P. A. d'origine intestinale (85, 89, 180).

C'est également Fishman qui, plus récemment, propose d'utiliser la L-homoarginine comme inhibiteur des P. A. osseuses et hépatiques alors que cet acide aminé est sans effet sur les P. A. intestinales et placentaires (57).

Quant à Moss (125) il étudie l'activité et la mobilité électrophorétique des P. A. après traitement au cyanate et acétylation.

L'utilisation de l'E.D. T. A. seul (193) ou associé à l'urée (35) semble plutôt inhiber l'ensemble des P. A. que permettre une réelle différenciation de celles d'origine hépato-biliaire. L'urée utilisée seule a permis à Birkett de montrer une plus grande résistance des P. A. placentaires alors que celles d'origine osseuses sont les plus facilement inactivées (21, 82). En utilisant l'urée 0,5 M, Bahr et Wilkinson (5) ont montré que les P. A. d'origine hépato-biliaire

se trouvent activées alors que celles d'origine osseuse sont légèrement inhibées à cette concentration d'urée. L'utilisation d'une gamme de concentration permet d'établir une courbe "foie" passant par un maximum pour une concentration de 0,5 M d'urée, c'est la courbe des ictères par obstruction, et une courbe "os" où l'activité phosphatasique est constamment décroissante avec l'augmentation de la concentration d'urée, cette courbe est caractéristique lors des métastases osseuses sans atteinte hépatique. Cette technique simple n'a pas donné de bons résultats entre les mains de Dubois (44) et de Moretti (122, 123).

Quant à l'effet inhibiteur du système urée-uréase il serait dû à la libération d'ammoniaque tout-au-moins dans les conditions expérimentales précisées par Metz : pH 9,3 et paranitrophénol phosphate comme substrat. Cette méthode présente peu d'intérêt diagnostic pratique au dire de son auteur qui par ailleurs ne retrouve pas l'activation des P. A. hépato-biliaires par l'urée seule (120).

2222. Inactivation par la chaleur

Le chauffage à 56 ° C permet d'inactiver les P. A. d'origine osseuse alors que celles d'origine hépato-biliaire gardent leur activité (148). Cette propriété est actuellement largement utilisée (88). Ratliff (150) estime à 25 à 35 % la fraction de P. A. normalement thermostable et note une diminution en dessous de 25 % lors des affections osseuses et une élévation au dessus de 35 % dans les affections hépatiques. Cadeau (29) obtient de bons résultats dans 93 % des cas après un chauffage du sérum à 56° C pendant 20 mn. Cette base technique a permis à Small (171) la mise au point d'un procédé automatique basé sur la vitesse d'inactivation des P. A. sériques à 56°, séparant ainsi ce qui revient respectivement au foie et à l'os.

Mais il faut apporter certaines restrictions à cette méthode car les P. A. intestinales sont elles aussi résistantes à la chaleur (118), il en est de même de celles d'origine placentaire (130), ce qui réduit l'intérêt de l'utilisation de cette méthode chez la femme enceinte. De plus Moss (128) note que la stabilité thermique varie avec le pH et même des variations individuelles entre des sérums qui contiennent *a priori* la même isoenzyme en raison d'une affection clinique identique ; par contre le taux des protides sanguins, de même que celui de l'urée ne semble pas intervenir. Il semble que l'inhibition par la chaleur soit surtout utile

ISOENZYMES MÉTODES	FOIE	OS	REIN	INTESTIN	PLACENTA
L-PHÉNYL- ALANINE	↑	↑	↑	↗	↗
L-HOMO- ARGININE	↗	↗	↑	↑	↑
URÉE	↖	↗ ↗	↗	↑	↑
56°	↑	↗	↑	↑	↑
CARACTÈRES DIFFÉRENTIELS DES ISOPHOSPHATASES ALCALINES -					

au cours des cancers métastatiques où l'extention osseuse ou hépatique peut être déterminée (41). L'association de la L-phenylalanine et de la chaleur permet à Green (68) une analyse différentielle automatique des isoenzymes des P. A. sériques qu'il classe en composant "intestinal" "hépatique" et "autre". En fait, la fraction "intestinale" comporte aussi la fraction placentaire lorsqu'elle est présente puisque celle-ci est également inhibée par la phénylalanine (58).

2223. Les méthodes chromatographiques

Les techniques chromatographique ont été utilisées pour séparer les différentes actions phosphatasiques du sérum, tant chez l'animal (1), que chez l'homme. Dunne en particulier, utilise à cet effet les techniques de filtration sur gel de Sephadex G-200 (45). Les courbes obtenues dans ces conditions sont reproductibles et celles correspondant aux tumeurs métastatiques du foie se montrent particulièrement caractéristiques. Cette technique de gel-filtration peut d'ailleurs être associée à d'autres techniques, par exemple : thermosabilité et inhibition par l'urée (52) ou à l'électrophorèse en agarose (47) ou en gel d'amidon (91).

2224. Les techniques électrophorétiques

Les différentes méthodes de migration électrophorétique ont été utilisées pour tenter de séparer les P. A.

L'électrophorèse en gélose fut l'une des premières utilisée par Halje (70), l'électrophorèse en agarose également (47, 179) une amélioration récente de cette technique consiste en une amélioration de la lecture : Démétriou (39) après migration sur film mince d'agarose en tampon barbital utilise le phosphate d' α -naphtyl AS-MX qui est converti en α -naphtol AS-MX fortement fluorescent. Les électrophorégrammes sont balayés avec un fluorimètre enregistreur et les mobilités électrophorétiques des enzymes d'extraits tissulaires, comparées à celles des protéines du sérum. Fritshe (63) utilise également la technique fluorimétrique avec le même substrat mais avec l'acétate de cellulose mais c'est un dérivé du naphthalène qui est converti en un dérivé fortement fluorescent.

Les techniques utilisant le gel d'amidon comme support sont les plus nombreuses (112, 114, 170). C'est une telle technique qui permet à Robson (159) une étude génétique du polymorphisme des P. A. placentaires, à Dunne (46) la mise en évidence d'une P. A. spécifique de la chloroleucémie de Shay (tumeur myéloblastique du rat) et à Warnock (191) la mise en évidence d'une P. A. spécifique du cancer primitif du foie.

Cette isoenzyme connue dans la littérature sous le nom d'enzyme de Regan (59) possède un certain nombre de propriétés des P. A. placentaires, toutefois, il semble que le type d'isoenzyme dépend plus du malade que de la maladie, des auteurs japonais (74) ayant trouvé lors d'hépatomes, une iso P. A. différente de l'isoenzyme de Regan mais ayant toujours des caractéristiques communes avec la P. A. placentaire. Les techniques utilisant le gel d'amidon comme support sont donc surtout des techniques de recherche qui permirent encore à Moss (127) l'étude de la constante de Michaelis des P. A. de diverses origines après migration puis élution du gel d'amidon, alors que Kowlessar (110) pratique après élution une étude quantitative.

En 1966 Warnock étudie la migration en gel d'amidon du sérum après action de divers inhibiteurs : chaleur, phénylalanine, et compare cette migration à celle d'un extrait d'organe (190).

De son côté Newton (131, 132) apporte une contribution intéressante à cette étude de la migration des P. A. en gel d'amidon, en particulier lors des atteintes pathologiques et propose une classification relativement précise en quatre types :

- type B, dans les ostéopathies : présence d'une bande large au niveau des β globulines, parfois complétée d'une bande étroite proche de l'origine.

- type L1 dans les atteintes hépatiques : présence d'une bande β mince et parfois d'une seconde comme dans le cas précédent,

- type L2 dans les obstructions biliaires : aux bandes précédentes s'ajoute une troisième bande sur la base de départ.

- type L3 dans les atteintes hépato-cellulaires : aux bandes de type L1 s'ajoute une troisième bande un peu moins rapide que la bande β .

Les différentes bandes sont appréciées à l'oeil nu après coloration du naphтол, libéré du naphтыl-phosphate, par la diazo-ortho-dianisidine. Cette technique de Newton, relativement simple, a été proposée comme étude de routine des hyperphosphatasémies (161).

L'évolution de la technique de migration en gel d'amidon permet à Caputo de proposer une microméthode permettant d'obtenir des résultats satisfaisants en cinq heures (32) et à Johnson de décrire une méthode fluorimétrique (92).

Le gel de polyacrylamide est également très utilisé tant pour les extraits tissulaires (172) que pour la séparation sérique (40, 80, 174). Pour Kaplan (97) cette technique permet la migration de quatre isoenzymes dont la signification pathologique est différente :

- une première bande correspond aux affections hépatiques ;
- une deuxième, aux affections osseuses ;
- une troisième, aux cirrhoses de Laennec ;
- une quatrième de signification encore inconnue.

Plus récemment, Johnson (93) combine la séparation par électrophorèse en disque sur gel d'acrylamide à l'inhibition par la chaleur ou l'urée de la phosphatase alcaline osseuse. Les isoenzymes provenant de la bile, de l'intestin, du placenta, de l'os et du foie peuvent être résolues directement et indépendamment sous forme de bandes séparées avec les sérums non traités sauf quand la phosphatase alcaline osseuse est fortement augmentée auquel cas les méthodes d'inhibition sont utilisées. La technique proposée permet néanmoins l'identification et le semi-dosage des cinq isoenzymes précédemment citées.

Parmi les méthodes électrophorétiques récentes citons encore la focalisation isoélectrique qui permet à Latner, en utilisant un gradient de saccharose avec l'Ampholine LKB comme ampholyte transporteur, de regrouper l'isoenzyme hépatique (113, 173).

223. Les méthodes immunologiques

Si les méthodes immunologiques sont utilisées depuis de nombreuses

années (27, 161) on sait que la protéine enzymatique n'est pas isolée avec précision et que ces méthodes, bien que très sensibles, manquent de spécificité.

Tombées en désuétude elles connaissent depuis peu un regain d'intérêt. Lino et collaborateurs (86) ont mis au point un dosage radio-immunologique de la phosphatase alcaline placentaire, ce qui suppose un progrès notable des techniques de purification de l'enzyme. La sensibilité de la méthode est excellente, de l'ordre du nanogramme, la spécificité l'est un peu moins puisque la méthode permet la mise en évidence dans le sérum humain, non seulement la P. A. placentaire mais encore une fraction appelée P. A. 4 et correspondant à la quatrième bande de migration électrophorétique à partir de la cathode.

224. Les méthodes biologiques

Nous regroupons sous le terme de méthodes biologiques, les méthodes utilisant des substrats spécifiques permettant de séparer les actions phosphatases en fonction de leurs activités biologiques. Ces méthodes bien qu'ayant intéressé de nombreux auteurs (69, 111, 121) n'en sont encore qu'à leurs débuts.

Moss (126) détermine l'activité phosphatasique alcaline, d'origine intestinale, dans le sérum par des mesures de spécificité de substrat. Il compare l'activité du sérum sur le phosphate d'ortho-carboxyphényle, le mono-phosphate de thymolphthaléine et le phosphate de phényle. La mesure du rapport des vitesses d'hydrolyse des deux derniers substrats constitue un discriminant satisfaisant et reproductible dans l'analyse des mélanges de phosphatases hépatique et intestinale humaines.

225. Conclusion sur les méthodes de séparation des isoenzymes des P. A.

La longueur et la diversité de l'énumération précédente peuvent être considérées à elles seules comme la preuve qu'aucune méthode idéale de séparation des isoenzymes des P. A. n'existe en biochimie clinique. On peut dire avec Dubois (44) et Moretti (122) que parmi toutes ces méthodes "celles qui sont bonnes ne sont pas simples et celles qui sont simples ne sont pas bonnes".

Les méthodes d'inhibition semblent valables, pour certaines d'entre-elles, si une isoenzyme prédomine, mais s'il y a plus d'une isoenzyme augmentée dans le sérum, les résultats peuvent être difficiles à interpréter. On peut donc préférer les méthodes biologiques utilisant des substrats spécifiques, méthodes à la base de la découverte de l'activité 5'nucléotidasique, ou enzyme ayant une activité d'hydrolyse sur le phosphate fixé en 5' du pentose d'un nucléotide. Actuellement, on essaie de compléter cette spécificité biochimique par la recherche de la signification et si possible de la spécificité clinique de telles enzymes comme la 5'nucléotidase que nous allons plus particulièrement étudier.

23. LA 5' NUCLEOTIDASE

231. Découverte

En 1934, Reis (151) étudiant les nucléotides du coeur et du muscle, émet l'hypothèse que la libération de phosphate à partir de ces nucléotides est due à une phosphatase spécifique. Cet auteur observe que les taux d'hydrolyse à pH 7 de l'adénosine 3' monophosphate (3' AMP) et de l'adénosine 5' monophosphate (5' AMP) par des extraits d'os et de rein sont identiques, par contre le taux d'hydrolyse du 3' AMP est inférieur à celui du 5' AMP lorsqu'on utilise des extraits de foie, de myocarde ou de rétine.

Il en est de même lorsqu'on utilise le β glycérophosphate à la place du 3' AMP. Ces organes contiennent donc une enzyme hydrolysant spécifiquement le 5' AMP.

Cette enzyme est mise en évidence aussi bien chez le lapin, le cobaye que chez l'agneau. Reis postule donc l'existence d'une "phosphatase spécifique pour les esters 5' monophosphoriques des ribosides puriques". Cette enzyme de Reis est maintenant communément appelée la 5' NUCLEOTIDASE, désignée officiellement sous le terme de 5' ribonucléotide phosphohydrolase ou E C 3. 1. 3. 5 et rencontrée dans la littérature sous les sigles de 5', 5' NU, 5 NT, NTP(8). Nous utiliserons au cours de ce travail l'abréviation 5'N.

Les travaux ultérieurs de Reis devaient prouver l'existence de la 5' nucléotidase dans l'ensemble des tissus animaux (153) même dans les tissus nerveux (152), puis dans les tissus humains (154) où il montre là également la spécificité de cette enzyme (137, 155).

232. Localisation

2321. Répartition dans le monde vivant

La 5' nucléotidase est largement répandue dans la nature. De nombreuses bactéries en contiennent (106), en particulier les genres *Proteus* et *Hémophilus* ; de nombreuses plantes en contiennent également en particulier les pommes de terre (104).

Les sources animales sont les plus nombreuses et les mieux étudiées. A la suite des travaux de Reis (152, 153) de nombreux auteurs étudièrent la 5' nucléotidase pour la localiser dans les tissus (3) et pour l'extraire en vue d'en étudier les propriétés. Les différentes sources de l'enzyme sont abondamment détaillées dans la revue que Bodansky consacra il y a quelques années à la 5' nucléotidase (25). Le sujet continue d'intéresser de nombreux auteurs, c'est ainsi que fut récemment étudiée la 5' nucléotidase du myocarde de pigeon (66), et celle du coeur de rat (48), du foie de boeuf (90), de l'intestin de porc (28) du foie (147) et du cerveau de rat (105) et même des membranes des globules graisseux du lait de vache (84). La répartition de l'enzyme de Reis semble être ubiquitaire.

2322. Localisation dans les tissus humains

C'est encore à Reis que l'on doit l'étude de la distribution de la 5' nucléotidase dans les tissus humains (154, 155), celle-ci est d'ailleurs très largement représentée à l'exception de l'intestin grêle dont les muqueuses duodénales et jéjunale en sont pauvres. La prostate en est également pauvre contrairement à ce qui fut primitivement affirmé (155) en raison de l'interférence vraisemblable des phosphatases acides.

Sont particulièrement riches en 5' nucléotidase :

- les centres nerveux et la post-hypophyse ;
- le testicule ;
- le rein ;
- l'aorte (2) ;
- la thyroïde (72) ;
- le cartilage en voie d'ossification.

Le foie en est moins riche que les organes précédents. Dixon et Purdom démontrèrent en 1954 l'existence de la 5' nucléotidase dans le sérum (42).

2323. Localisation intra-cellulaire

Après homogénéisation et ultracentrifugation en gradient de sucrose, l'activité 5' nucléotidasique est surtout concentrée au niveau des noyaux cellulaires. Les noyaux des cellules cérébrales et des spermatogonies en sont particulièrement riches.

Dans le foie la 5' nucléotidase est retrouvée au niveau des noyaux des hépatocytes et des cellules de Kupffer, mais aussi au niveau des lysosomes de ces cellules (177). Les microvillosités des membranes cytoplasmiques des cellules limitant les canalicules biliaires et les capillaires sinusoides en sont particulièrement riches (7, 178, 186) ce qui n'est certainement pas sans rapport avec l'élévation de la 5' N lors des affections hépato-biliaires.

233. Rôle de la 5' nucléotidase

2331. Rôle physiologique

Le rôle de la 5' nucléotidase dans le métabolisme cellulaire n'est pas clairement défini. Elle ne semble pas participer au catabolisme physiologique des acides nucléiques (ARN et ADN). On sait que physiologiquement l'acide adénylique (AMP) est désaminé par l'adénosine-désaminase en acide inosinique (IMP), celui-ci étant scindé en hypoxanthine et en ribose-phosphate sur lequel une phosphatase non spécifique peut agir.

La 5' nucléotidase ne semble pas intervenir dans l'ostéogénèse puisque, nous le verrons, son taux sérique n'est pas modifié pendant la croissance. Bien que nous l'avons vu, l'activité 5' nucléotidasique soit augmentée au niveau du cartilage en voie d'ossification.

Quant au rôle dans la spermatogénèse il reste hypothétique mais s'appuie sur la grande richesse testiculaire en 5'nucléotidase.

Il est concevable que la 5'nucléotidase puisse avoir un rôle dans la glycogénèse en régularisant les concentrations de phosphate et d'acide adénique. On sait en effet depuis Cori (36) que la concentration du 5'AMP influence l'activité d'importantes enzymes de la voie glucolytique, en particulier :

- la glycogène-phosphorylase ;
- la phosphofructokinase ;
- la fructose 1-6 diphosphatase.

Au rang des hypothèses sur le rôle physiologique de la 5' nucléotidase il faut citer l'influence des facteurs nutritionnels sur le taux de cette enzyme. Terroine a montré (181) que la 5' nucléotidase hépatique d'un rat soumis pendant cinq jours à une diète complète s'élève de 25 %, toutefois compte-tenu de la diminution de la masse hépatique, la quantité totale de la 5' nucléotidase contenue dans le foie est néanmoins diminuée.

L'influence des facteurs hormonaux a également été étudiée. Panda (133) montre que l'activité 5' nucléotidase hépatique du rat blanc est augmentée par l'administration d'hormone de croissance. D'autres auteurs montrent sa diminution après hypophysectomie. La cortisone de son côté provoque une élévation de la 5' nucléotidase des îlots pancréatiques. La grossesse et la lactation sont à l'origine d'une diminution de la 5' nucléotidase de la glande mammaire.

2332. Rôle en pathologie

Lors de l'athérosclérose on observe une élévation importante de la 5' nucléotidase au niveau des plaques d'athéromes, suggérant un rôle dans la calcification pathologique où la 5' nucléotidase jouerait un rôle similaire à

celui joué par les P. A. dans la théorie de la calcification proposée par Robinson (158).

Certaines tumeurs testiculaires : séminomes et dysgerminomes sont particulièrement riches en 5' nucléotidase (185).

Lors des rétentions biliaires la 5' nucléotidase sérique augmente également. Bel, lors d'expériences de ligature du cholédoque chez le rat, note au bout de cinq jours une augmentation de la 5' nucléotidase de 146 fois son taux de base alors que la bilirubine n'augmente que de 27 fois (116). Il semble donc que durant la rétention biliaire, la 5' nucléotidase qui passe normalement dans la bile, passe alors dans le sang mais que la synthèse en soit également accrue comme cela a été démontré par Kaplan (96) pour les phosphatases alcalines.

Les variations sériques de la 5' nucléotidase tant dans les rétentions biliaires que dans d'autres affections seront discutées dans cette thèse.

234. Métabolisme de la 5' nucléotidase

Tout comme son rôle physiologique le métabolisme de la 5' nucléotidase reste imprécis. Le foie humain est plus riche en 5' nucléotidase qu'en P. A., la bile par contre est relativement pauvre alors que les urines en éliminent de 4000 à 75000 unités par jour ; ce qui suggère à Moretti (122) une origine rénale de la 5' nucléotidase.

235. Purification de la 5' nucléotidase

De nombreux essais de purification ont été effectués, néanmoins tant le poids moléculaire que la structure restent inconnus.

2351. A partir d'extraits tissulaires

Les tissus les plus utilisés sont ceux qui sont le plus riche en 5' nucléotidase :

- le liquide séminal de taureau (73),
- l'hypophyse de boeuf,
- le foie humain (176) ou de rat,
- le venin de serpent,
- et la pomme de terre.

Les techniques utilisées sont celles habituellement employées pour séparer des protéines (relargage, centrifugation, électrophorèse, chromatographie) ; la plupart des techniques analytiques peuvent en effet être utilisées dans un but préparatif.

On arrive ainsi assez facilement à concentrer l'activité 5' nucléotidase une vingtaine de fois. Heppel et Hilmoe (73) la concentrent 50 fois à partir du sperme de taureau et obtiennent une 5' nucléotidase dépourvue d'activité phosphatasique non spécifique.

2352. A partir du sérum

En 1966, Moss sépare la 5' nucléotidase des P. A. non spécifiques par des méthodes chromatographiques (124), il utilise à cet effet :

- d'une part une résine échangeuse d'ions (DEAE-cellulose) d'où les enzymes sont éluées par un gradient de chlorure de 0,07 à 0,3 M en tampon tris-HCL 0,05 M à pH 7,7 :

- d'autre part la filtration sur gel (Séphadex G-200) à l'aide d'une solution de NaCL à 0,9 pour 100.

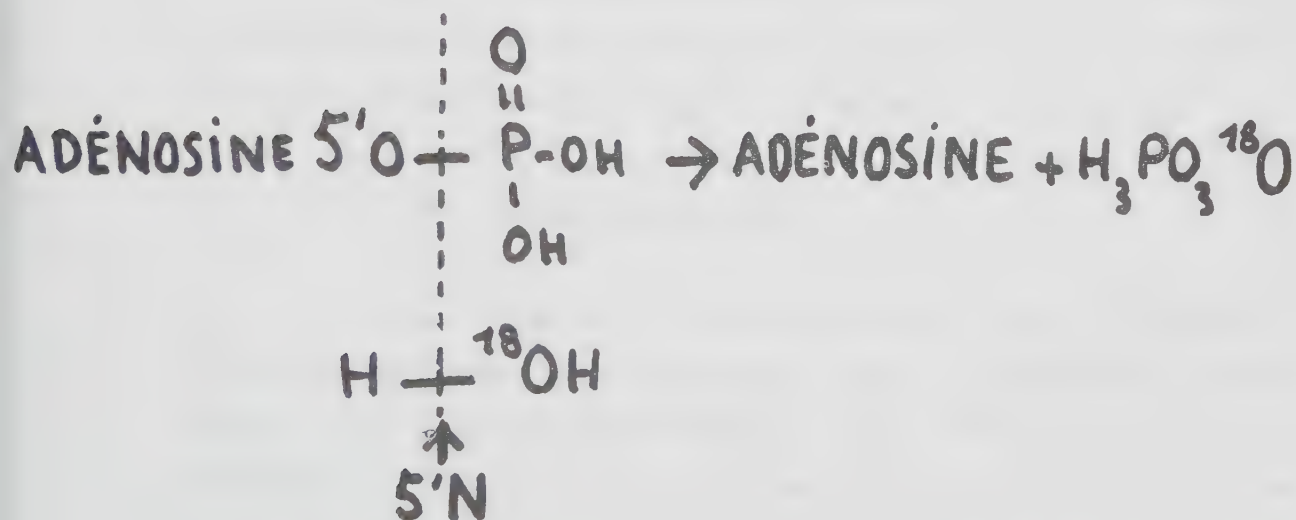
La 5' nucléotidase est retenue par la résine échangeuse d'ions plus longtemps que ne le sont les PA non spécifiques, par contre elle sort la première lors de la gel-filtration. Ces faits permettent d'attribuer à la 5' nucléotidase un PM supérieur à celui des P. A. et une plus grande richesse en hydrates de carbone. Il faut signaler toutefois que quelque soit le type de chromatographie utilisé, il existe une hétérogénéité du pic principal de chaque enzyme qui comporte une faible fraction ayant l'autre activité enzymatique. L'étalement du pic de la 5' nucléotidase est peut-être dû au manque de spécificité de la méthode de Campbell (31) qui fut utilisée pour déterminer l'activité 5' nucléotidasique des éluats.

236. Propriétés de la 5' nucléotidase

L'extraction, la purification et la concentration de la 5' nucléotidase de divers tissus qui en sont riches permettent d'étudier les propriétés physico-chimiques de l'enzyme.

2361. Le site d'action et la spécificité biochimique

Comme pour les P. A. non spécifiques c'est l'utilisation de l'oxygène lourd (^{18}O) qui permis à Koshland et Springhorn (25) de déterminer à l'aide de la 5' nucléotidase purifiée à partir du liquide séminal de taureau et du 5' AMP comme substrat que l'hydrolyse avait lieu entre le phosphore et l'oxygène lié au carbone 5' du pentose.



La spécificité biochimique de la 5' nucléotidase s'exerce pour les nucléotides phosphorylés au niveau du carbone 5' du pentose qu'il s'agisse de nucléotides puriques ou pyrimidiques et que ce soit des ribonucléotides ou des désoxyribonucléotides.

Dans ses travaux initiaux, Reis (151, 152, 153) utilise principalement :

- l'adénosine 5' monphosphate (5' AMP) ou acide adénylique,
- et l'inosine 5' monphosphate (5' IMP) ou acide inosinique.

Heppel et Hilmoe (73) étudient en plus des substrats précédents :

- l'uridine 5' monophosphate (5' UMP),
- la cytidine 5' monphosphate (5' CMP),
- la guanosine 5' monophosphate (5' GMP).

Le 5' IMP, le 5' GMP et le 5' CMP ont récemment été utilisés dans les technique spectrophotométriques de dosage de la 5' N (53).

Quant à Bodansky (25) il étudie l'action de la 5' nucléotidase sur les désoxyribonucléotides tels que :

- la désoxyadénosine 5' monophosphate (5' d AMP),
- la désoxyguanosine 5' monophosphate (5' d GMP),
- la désoxycytidine 5' monophosphate (5' d GMP).

La 5' nucléotidase est vraisemblablement active sur tous les nucléotides portant le phosphate en position 5' du pentose ainsi que sur leurs précurseurs : Orotidine-5'-phosphate ou Xanthosine-5'-phosphate.

2362. pH optimum d'action

Pour la mesure de l'activité tissulaire, Reis (152) en tampon véronal-acétate trouve un pH optimum de 7,0 pour le nerf sciatique de cheval et de 7,5 pour le cortex cérébral humain. Heppel et Hilmoe (73) trouvent un pH optimum entre 8,0 et 9,0 pour la 5' nucléotidase purifiée à partir du sperme de taureau. Bodansky et Levin (25) à partir de cette même source, en tampon tris, avec adjonction de magnésium 0,01 M et à 37° C, trouve deux optima de pH, 7,5 et 9,2 - 9,4 ; la présence d'histidine modifiant d'ailleurs ces résultats (24). Plus récemment, à partir d'extraits d'intestin grêle de porc concentrés 110 fois en 5' nucléotidase, Burger et Lowenstein montrent l'existence de 3 pH optima (28). On peut penser que ces résultats démontrent l'existence d'isoenzymes de la 5' nucléotidase même à partir d'une source présumée homogène ce qui complique d'autant le dosage sérique de cette enzyme, et l'expression "Les 5' nucléotidases" parfois rencontrée dans la littérature n'est certainement

pas dénué de tout fondement. Nous emploierons indifféremment quant à nous "la 5' N" ou "Les 5' N".

Dans le sérum, les premières méthodes de dosage préconisées mesureraient l'activité de la 5' nucléotidase à pH 7,5 ; il en est ainsi des méthodes de Dixon et Purdom (42), de Young (193), de Campbell (31). Etudiant le pH optimum des 5' nucléotidases humaines tant tissulaires (thyroïdienne, hépatique et aortique) que sérique, Hill et Sammons (79) trouvent pour la 5' sérique un pH optimum à 6,8 - 7,2 chez des malades atteints d'affection hépatobiliaire et ayant une 5' nucléotidase élevée. Belfield de son côté estime le pH optimum des 5' nucléotidases sériques à 7,8 (13) mais ne précise pas s'il s'agit de sujets normaux ou pathologiques. Ces variations dans l'estimation du pH, auquel l'activité de la 5' nucléotidase sérique est maximale, expliquent que pour son dosage les tampons s'échelonnent de pH 7,4 pour Hill et Sammons (76) à pH 7,9 pour Belfield et Goldberg (16).

2363. Activateurs et inhibiteurs de la 5' nucléotidase

C'est à Ahmed et Reis que l'on doit la première étude importante de l'activation et de l'inhibition de la 5' nucléotidase (2). Ces auteurs utilisent des extraits d'aorte humaine et de placenta, et une dizaine d'ions sont testés :

- l'activation la plus importante est obtenue avec Mg^{++} , Mn^{++} , et CN^- ;
- l'inhibition la plus forte est obtenue avec Ni^{++} et Zn^{++} .

L'action du magnésium déjà mentionnée par Reis (151) a été particulièrement étudiée par Belfield et Goldberg (16). Une concentration finale de 10 mM Mg^{++} , c'est-à-dire 200 fois supérieure à celle obtenue par la seule magnésémie, permet à pH 7,9 une activation spécifique de la 5' nucléotidase ; le substrat utilisé est le 5' AMP. Dans ces conditions expérimentales l'activité des P. A. n'est pas modifiée, comme le prouve le même taux d'hydrolyse du phényl-phosphate avec et sans magnésium. Pour Belfield et Goldberg l'activation par l'ion Mg^{++} de la 5' nucléotidase permet de présenter une méthode de dosage sérique basée sur ce principe ; le taux d'hydrolyse du substrat

étant proportionnel à la concentration de l'enzyme activée.

Dans un même ordre d'idée Schwartz et Bodansky ont montré l'activation de la 5' nucléotidase par la L-Histidine (24) et proposé une technique de dosage sérique utilisant la L-Histidine à la concentration de 0,001 M et le magnésium (165). En fait, cet acide aminé agit vraisemblablement en inhibant partiellement les P. A. non spécifiques comme le fait la glycine (23). Quoiqu'il en soit, l'activité 5' nucléotidasique se trouve augmentée par les α -amino-acides (25) :

- de 17 % par la L-Histidine,
- de 14 % par la L-tyrosine,
- de 34 % par la glycine.

La 5' nucléotidase des cellules tumorales d'ascite d'Erlích est inhibée par l'ATP et la thymidine triphosphate (129) ; alors que la 5' nucléotidase de l'intestin grêle de porc est inhibée davantage par l'ADP que par l'ATP (28). La 5' N est également inhibée par un excès de substrat (43).

On peut avec Hill et Sammons inhiber les 5' nucléotidases du sérum par le butanol (78). L'adjonction, d'un volume de butanol à un volume de sérum dilué au demi, permet, après agitation pendant 60 minutes puis centrifugation, d'obtenir un surnageant dépourvu d'activité 5' nucléotidasique mais ayant gardé une activité P. A. intacte.

Konopka (107) qui étudie l'influence des détergents sur l'activité de la 5' N du foie de rat montre son activation par le désoxycholate de Na.

La revue des activations et inhibitions de la 5' nucléotidase faite par Bodansky (25) montre une certaine variabilité des réponses selon les sources de l'enzyme et le pH auquel sont faites les incubations.

237. Conclusion

Les tentatives de purification et d'isolement de la 5' nucléotidase, de même que les propriétés physico-chimiques de cette enzyme ont été mises à profit pour son dosage sérique (43).

Si son activation ou son inhibition a été largement utilisée pour son dosage sérique par des techniques différentielles à deux tubes, on insiste surtout actuellement sur l'inhibition des P.A. sériques par compétition de substrat, permettant un dosage de la 5' nucléotidase en utilisant simultanément son substrat spécifique.

Ces techniques en un tube utilisent comme substrat de diversion des P.A. soit le β glycéro-phosphate comme Belfield (14), soit l'orthophosphate de phénol disodique comme Persijn (141).

3. LES METHODES DE MESURE DE L'ACTIVITE SERIQUE DE LA 5' NUCLEOTIDASE

Nous étudierons successivement les différentes méthodes de dosage de la 5' NUCLEOTIDASE du sérum, puis nous proposerons une méthode semi-automatique originale.

31. LES METHODES PREEXISTANTES

311. Description des différentes méthodes de dosage

3111. Méthode de Dixon et Purdon

Dixon et Purdom (42) décrivent en 1954 la première méthode de dosage de la 5' nucléotidase sérique. On sait que les P. A. non spécifiques bien qu'ayant une activité maximale à pH 9 conservent néanmoins à pH 7,5 une certaine activité catalytique tant pour le glycérophosphate que pour le 5' AMP. Cependant, à pH 7,5 l'activité vis à vis du 5' AMP est supérieure, à celle vis à vis du glycérophosphate et la différence d'activité correspond à l'enzyme ayant une action spécifique sur le 5' AMP, c'est-à-dire l'activité 5' nucléotidasique du sérum. Dans cette méthode, on utilise 0,2 ml de sérum dans chaque tube de substrat. Un premier tube contient le 5' AMP dont la concentration finale est de 2,25 mM, un second tube contient le glycérophosphate dont la concentration finale est de 1,42 mM. Les auteurs supposent donc la même activité des P. A. non spécifiques sur le glycérophosphate à 1,42 mM que sur le 5' AMP à 2,25 mM au même pH 7,5 (25). L'incubation à 37° C dure 2 h 30 mn et après déprotéinisation par l'acide trichloracétique on pratique un dosage du phosphore inorganique selon la méthode de Fiske et Subbarow (60) c'est-à-dire en utilisant l'acide aminonaphtol sulfonique comme réducteur. Dans cette méthode, l'unité de 5' nucléotidase correspond à la libération de 1 mg de phosphore pour 100 ml de sérum en 1 heure à 37° C. C'est

donc une unité similaire à l'unité Bodansky. Les valeurs normales vont de 0 à 1,6 unités. Cette technique peut être facilement mise en oeuvre en utilisant le coffret commercialisé par la firme "Sigma" ; c'est à notre connaissance la seule méthode de dosage de la 5' nucléotidase présentée de cette façon.

Kowlessar en 1961 (108, 109) modifie la technique de Dixon et Purdom (42) en ajoutant du sulfate de magnésium aux substrats. Dans le glycérophosphate il ajoute du $MgSO_4$ à 0,05 M pour obtenir une concentration finale de 0,003 M, alors que dans le 5' AMP il ajoute une solution de $MgSO_4$ à 0,4 M et obtient une concentration finale de 0,024M. Pour Kowlessar, ces concentrations respectives permettent d'inhiber les P.A. et d'activer la 5' nucléotidase. En fait, pour Bodansky (25) des concentrations de l'ion Mg^{++} comprises entre 0,02 et 0,05 M exercent une légère activation sur les P.A. humaines d'origine osseuse et intestinale. Dans cette technique encore, la mesure se termine par un dosage de phosphore et les valeurs normales s'étendent de 0,4 à 2,0 unités avec une moyenne de 1,0 unité et un écart-type de $\pm 0,3$ unité.

3112. Méthode de Young

En 1958 Young (193) propose une méthode basée sur la sensibilité des P.A. non spécifiques à l'acide éthylenediamine tétracétique : on incube préalablement le sérum avec de l'EDTA à 0,0015 M auquel la 5' nucléotidase résiste, puis ce sérum hydrolyse le 5' AMP en présence de Mg^{++} 0,04 M à pH 7,5 pendant 1 heure. Le taux normal est compris entre 0,3 et 3,2 unités. Cette méthode fut critiquée par Walker et Bayliss (188) qui lui préfèrent la suivante, celle de Campbell.

3113. Méthode de Campbell et méthodes dérivées

En 1962, Diana Campbell propose une méthode de dosage de la 5' nucléotidase utilisant la propriété de celle-ci d'être spécifiquement inhibée par le nickel (31). Cette propriété avait été démontrée par Ahmed et Reis en 1958 (2) qui en suggéraient d'ailleurs l'utilisation pour le dosage de l'enzyme. On utilise l'ion Ni^{++} à la concentration finale de 0,01 M. La méthode nécessite donc la détermination parallèle de deux activités enzymatiques sur le 5' AMP

comme substrat : l'une avec l'ion Ni^{++} , l'autre sans. Le manganèse est employé comme activateur car il se montre plus actif que le magnésium (2, 10). Après une incubation de 30 mn en tampon véronal à pH 7,5 on arrête l'hydrolyse de 5' AMP par l'acide trichloracétique à 10 %. On dose ensuite le phosphore par la méthode de Fiske et Subbarow 1925 (60) ou par celle de Delsal et Manhoury 1958 (38). Les résultats sont exprimés en mole de substrat utilisé par minute et rapportés au litre de sérum sachant qu'une molécule de 5' AMP fournit une molécule de phosphore. Les valeurs normales vont de 2 à 15 unités par litre. Cette méthode est l'une des plus utilisée tant en France par les auteurs bordelais : Moretti (122, 123), la thèse de Dubois (44) par les auteurs lyonnais : Lenglet (116), Bel (11), la thèse de Fléchaire (61) ; qu'à l'étranger par les auteurs Anglo-Saxon ; Hill (75), Schwartz (164), Hobbs (81) ; en Allemagne par Gerlach (65). C'est cette méthode qui est proposée dans les ouvrages de Biochimie Clinique de King (102, 103) qui lui vaut parfois d'être mentionnée dans la littérature sous le nom de méthode de King-Campbell ou même de méthode de King (83, 134, 135).

Reider et Otero (156) proposent en 1969 une simplification de la technique de Campbell (31). La méthode employée évite la nécessité d'éliminer les protéines avant le dosage du phosphore : après une incubation de 1 heure, 1 ml de Lauryl Sulfate de Sodium à 4 % est ajouté à chaque tube. Le dosage du phosphore s'effectue en utilisant l'acide ascorbique comme réducteur après avoir pris soin d'ajouter le sel de nickel au tube qui n'en a pas reçu avant l'incubation à moins que l'on se soit assuré de l'absence de phosphore dans cette solution. Les chiffres normaux sont dans les limites de 1,6 à 14,0 unités par litre de sérum. Il n'y a pas de différence apparente entre les sexes.

En 1966 Hill et Sammons (76) mettent au point une technique automatique utilisant comme la technique de Campbell l'inhibition de la 5' nucléotidase par l'ion nickel. C'est une technique entièrement automatique, incubation comprise, mais nécessitant de passer deux fois chaque échantillon ; une première avec un tampon contenant du nickel, une seconde avec un tampon n'en contenant pas. Les auteurs suggèrent néanmoins l'utilisation possible de deux colorimètres et d'un enregistreur à double plume. La réaction est arrêtée par l'adjonction d'EDTA à la concentration finale de 20 à 30 mM qui inhibe phospho-

tases alcalines et 5' nucléotidase. On pratique ensuite une dialyse et une colorimétrie du phosphore. Cette méthode est reproductible et il existe une bonne corrélation entre cette méthode et celle, manuelle, de Campbell sur laquelle elle est basée.

3114. Dosage cinétique en ultra-violet

Le dosage cinétique de la 5' nucléotidase est basé sur le phénomène démontré en 1947 par Kalckar (95), à savoir que la décroissance de la densité optique à 265 nm, résultat de la désamination enzymatique de l'adénosine en inosine par l'adénosine-désaminase (ADA), est proportionnelle à la concentration en adénosine. Ce type de réaction peut donc être utilisé pour la détermination de l'adénosine.

En 1960 Ségal et Brenner utilisèrent cette réaction dans leur travail sur la 5' nucléotidase des microsomes de foie de rat (167). Après incubation des microsomes avec le 5' AMP en tampon tris, la solution déprotéinisée, l'adénosine apparue est déterminée selon la méthode de Kalckar (95), comparativement le phosphore est dosé selon la méthode de Fiske et Subarrow (60). En 1967 Ipata (87) étudiant la 5' nucléotidase des extraits de cervelle de mouton utilise cette même technique : la quantité d'adénosine formée est calculée d'après la diminution de la DO à 265 nm après addition d'un excès d'ADA.

Leybold (117) et Beckmann (10) appliquent en 1969 la méthode précédente au dosage sérique de la 5' nucléotidase. Dans un premier tube le 5' AMP est transformé en adénosine par la 5' nucléotidase et les phosphatases alcalines non spécifiques, alors que dans un second tube un mélange du 2' et de 3' AMP est hydrolysé en adénosine par les seules phosphatases non spécifiques. Après addition d'ADA la différence entre la diminution de la DO de ces deux tubes correspond à l'adénosine formée par la seule 5' nucléotidase. Ces auteurs se placent dans les conditions optimales de la réaction d'hydrolyse :

- température de 37° C à laquelle la 5' nucléotidase sérique est 3,1 fois plus active qu'à 23 °C ;
- en tampon tris 0,16 M de pH 7,5 ;
- comme activateur le manganèse 0,5 mM est préféré au magnésium
- les substrats sont utilisés à la concentration de 0,1 mM.

3115. Méthodes utilisant le β -glycérophosphate comme inhibiteur des phosphatases alcalines non spécifiques;

En 1968 Belfield et Goldberg (14) étudient l'hydrolyse produite par la phosphatase alcaline de l'intestin de veau sur divers substrats : 2' AMP, 3' AMP, 5' AMP, p. nitrophényl phosphate et montrent l'inhibition totale de l'hydrolyse par le β glycérophosphate à la concentration finale de 16,7 mM. Dans une deuxième série d'expériences l'utilisation de la 5' nucléotidase de venin de *Crotalus adamanteus* ou d'extraits d'aorte humaine dépourvue de PA. non spécifique (2) leur montre que seul le 5' AMP est hydrolysé et que cette hydrolyse n'est pas affectée par la présence du β glycérophosphate. Dans une troisième série d'expériences, ils utilisent un mélange, à partie égale de P. A. d'intestin de veau et de 5' nucléotidase de venin de serpent, et observent d'une part que l'hydrolyse du 5' AMP est supérieure à celle des autres substrats et que celle-ci diminue mais persiste après adjonction de β glycérophosphate, alors que l'hydrolyse du 5' AMP est supérieure à celle des autres substrats et que celle-ci diminue mais persiste après adjonction de β glycérophosphate, alors que l'hydrolyse des autres substrats s'annule. L'utilisation exclusive par les P. A. du β glycérophosphate, qui se trouve présent à une concentration 150 fois plus importante que celle du 5' AMP, entraînent les auteurs à proposer cette inhibition de l'effet nucléotidasique des P. A. comme méthode de dosage sérique de la 5' nucléotidase. Le dosage final s'effectuait par une détermination spectrophotométrique à 265 nm selon la méthode de Kalckar (95). Les auteurs émettent l'hypothèse que cette inhibition par le β glycérophosphate peut servir à la détermination d'autres P. A. spécifiques telles que celles hydrolysant les oses-phosphates ; mais ils n'envisagent pas la possibilité d'induire la mobilisation des P. A. non spécifiques par un autre substrat que le β glycérophosphate.

En 1969 Ellis, Belfield et Goldberg utilisant la technique précédente basée sur l'inhibition des P. A., terminent le dosage en couplant l'ammoniaque libéré de l'adénosine par l'ADA à un système de transamination NADH-dépendant (49). Ils utilisent à cet effet l'amination de l'acide acéto-glutarique par la L-glutamo-déshydrogénase. L'évolution de la réaction est suivie par le principe de Warburg (189), c'est-à-dire par la décroissance de la DO à

340 ou 366 nm liée au phénomène d'oxydation de la pyridine nucléotide : la nicotinamide-adénine-dinucléotide réduite (NADH + H⁺). Cette méthode nécessite un spectrophotomètre ultra-violet thermostaté à 37° C, des réactifs onéreux, la mise en oeuvre de réactions couplées assez complexes. Cette technique a été automatisée par ces memes auteurs (66), d'autre part Bootsma (26) propose d'y utiliser le phényl-phosphate comme inhibiteur des P. A. non spécifiques.

En 1970 Belfield et Goldberg (13) toujours en utilisant le principe de l'inhibition des P. A. par le β glycérophosphate proposent de terminer le dosage par une réaction colorimétrique de l'ammoniaque : la réaction de Berthelot (20) au phénol-hypochlorite. Cette technique utilise 40 μ l de sérum, l'hydrolyse du 5' AMP s'effectue en tampon véronal 0,05 M à pH 7,9. Le chlorure de magnésium 10 mM est utilisé comme activateur (16) ce qui entraîne un précipité lors de la révélation colorimétrique, pour l'éviter, le magnésium est complexé par une solution d'EDTA. Par cette méthode, la valeur moyenne de la 5' nucléotidase sérique est de 7,9 unités $\pm$ 4,9, la limite supérieure de la normale est de 17,7 unités.

Joncquiert et Nyssen ont récemment automatisé cette technique (94). Il s'agit d'une technique semi-automatique où seul le dosage d'ammoniaque est automatisé. La seule modification réside dans la composition des réactifs. Ces auteurs utilisent pour la réaction de Berthelot les réactifs préconisés par Assous (4) au lieu de ceux de Chaney (33) utilisés par Belfield (13).

3116. Les travaux de Persijn

□ Généralités

Dans une série d'articles échelonnés de 1968 à 1972 Persijn et collaborateurs :

- . décrivent une nouvelle méthode de dosage de la 5' nucléotidase sérique (138, 139) ;
- . en étudient une simplification possible (140) ;
- . s'attachent plus particulièrement à l'étude de l'inhibition des phosphatases alcalines interférent dans ce dosage (141, 144) ;

. se livrent à une étude critique des paramètres influençant le dosage (142) ;

. et étudient la valeur du dosage de la 5' nucléotidase en clinique et en particulier lors des affections néoplasiques et de leur traitement (143).

- Principes de la technique de Persijn

La technique manuelle de Persijn rappelle celle de Belfield (13) mais le β glycérophosphate a fait place au phénylphosphate. Par contre, il utilise également le 5' AMP comme substrat et l'adénosine libérée par la 5' nucléotidase est également désaminée par l'adénosine désaminase ou ADA incorporée en excès.

Les premières solutions d'ADA utilisées par Persijn contenaient une forte concentration d'ammoniaque nécessitant une dialyse préalable à l'emploi. Une simplification de la méthode consiste à utiliser de l'ADA en solution dans le glycerol à 50 % et dépourvu de sels d'ammonium ; le glycérol n'intervenant pas dans les différentes phases du dosage de la 5' nucléotidase (140).

L'originalité de la méthode de Persijn réside dans l'utilisation des phénylphosphate comme inhibiteur des P. A. non spécifiques ; Persijn utilise à son égard le terme de "compétitive substrate rétention" que l'on peut traduire par "substrat de diversion". L'utilisation d'un substrat de diversion interdit évidemment un dosage de phosphore final puisque celui-ci est libéré tant par les P. A. non spécifiques que par la 5' nucléotidase. On ne peut pas davantage suivre en UV la désamination de l'adénosine comme le font Ipata (87) ou Leybold et Beckmann (10, 117) selon le principe de Kalckar (95), en effet le phénylphosphate a un ϵ molaire élevé à 265 nm.

Après un temps d'incubation de 60 mn à 37° C Persijn conseille donc de doser l'ammoniaque libéré par la méthode de Berthelot : le taux de la 5' nucléotidase étant proportionnel à l'ammoniaque libéré. On ajoute de l'EDTA au réactif phénolique pour prévenir une éventuelle précipitation des sels de calcium et de magnésium par l'hypochlorite alcalin.

- Etude particulière du phénylphosphate

Dans une publication ultérieure (141) Persijn devait démontrer l'avantage de l'utilisation du phénylphosphate disodique comme substrat de diversion. A la concentration de 8 mM cette substance n'influence pas la colorimétrie de l'ammoniaque libéré à partir de l'adénosine et la DO est proportionnelle au volume de sérum incubé de 0 à 100 μ l.

Des concentrations croissantes de phénylphosphate n'influencent pas des taux normaux ou faiblement élevés de 5' nucléotidase, de même elles n'influencent pas des taux élevés de 5' nucléotidase au cours d'affections hépatobiliaires ; par contre lors d'affections osseuses s'accompagnant de P.A. élevées, (maladie de Paget, hyperparathyroïdie), le taux d'enzyme actif sur le 5' AMP décroît fortement et se stabilise en présence de 8mM de phénylphosphate. Cela fait supposer à Persijn que l'isoenzyme osseux en a peu, et que cette action est supprimée par d'adjonction d'un substrat de diversion, tout au moins lorsque celui-ci est le phénylphosphate.

- Critique de l'utilisation du β glycérophosphate

Persijn (144) estime que le β glycérophosphate inhibe les 5' nucléotidases de toutes origines pour des concentrations de l'ordre de 10mM, c'est-à-dire inférieure à celle proposée par Belfield pour le dosage de la 5' nucléotidase "vraie" et qui est de 22 mM (13, 14). Expérimentalement, en ajoutant du β glycérophosphate au sérum normal ou pathologique, on observe une décroissance, du taux des 5' nucléotidases dosées selon Persijn, directement proportionnelle à la concentration du β glycérophosphate pour les concentrations de celui-ci supérieure à 8mM. Ce phénomène peut s'expliquer pour Persijn par le fait que le β glycérophosphate chélate les ions Mg^{++} nécessaires à l'activation des 5' nucléotidases.

L'utilisation du β glycérophosphate est à l'origine d'une technique peu sensible, ne détectant pas des élévations modérées de la 5' nucléotidase ; élévations qui sont néanmoins importantes sur le plan clinique. Belfield semble donc loin de la "true 5' nucléotidase activity" à laquelle il prétendait.

Persijn pense qu'en présence de phénylphosphate l'activité 5' nucléotidasique est due à une enzyme d'origine hépatique et que le β glycérophosphate inhibe tout-au-moins partiellement cette activité. Toutefois à partir de pH = 8 le phénylphosphate inhibe lui aussi cette activité 5' nucléotidasique.

- En conclusion

La méthode proposée par Persijn a un coefficient de variation de 2,5 à 3,5 %, ce qui est meilleur que la plupart des méthodes utilisées en biochimie clinique. Les valeurs normales dans le sérum humain vont de 2,9 à 10,5 UI/l. Il est à noter qu'en l'absence de phénylphosphate l'activité 5' nucléotidasique est de 7 % plus élevée et donc s'échelonne de 5,4 à 11,5 UI/l.

312. Réflexion sur ces différentes méthodes de dosage

3121. Le dosage de la 5' nucléotidase

Les différentes méthodes de dosage de la 5' nucléotidase sont des méthodes de dosage enzymatique classiques c'est-à-dire qu'elles cherchent à déterminer l'activité biologique de l'enzyme dans certaines conditions expérimentales et non un dosage de la protéine enzymatique à proprement parler. Cette évaluation pondérale serait-elle possible, qu'elle ne se révélerait peut-être pas parallèle à l'activité enzymatique car :

- la molécule enzymatique peut être présente et avoir un site biologique inactif ;

- elle peut être, soit activée, soit inhibée par des composants de sérum, qu'il s'agisse de substances présentes normalement, ou anormalement comme les médicaments ;

- il peut s'agir d'une enzyme allostérique.

On voit donc qu'une méthode immunologique, telle que l'immunodiffusion radiale unidimensionnelle type Mancini, possible dès que la 5' nucléotidase aura été obtenue suffisamment purifiée, présenterait le désavantage de doser les molécules présentes et non les molécules enzymologiquement actives.

Le dosage de la 5' nucléotidase reste donc une mesure de l'activité biologique de l'enzyme. Toutes les méthodes utilisent le 5' AMP ou acide adénylique comme substrat spécifique de la 5' nucléotidase qui l'hydrolyse selon la réaction :



Toutefois l'on sait que si la 5' nucléotidase hydrolysant spécifiquement le 5' AMP, celui-ci peut-être scindé de la même façon par les P. A. non spécifiques du sérum.

3122 L'inhibition des phosphatases

C'est le problème essentiel qui a justifié depuis 20 années l'élaboration de nouvelles techniques. En 1954 Dixon et Purdom (42) éludent le problème en effectuant deux dosages séparés sur deux substrats différents :

- sur le glycérophosphate où seules les P. A. non spécifiques sont actives ;
- alors que le 5' AMP est hydrolysé à la fois par les P. A. et la 5' nucléotidase.

La différence entre les deux tubes est faible. La méthode, peu sensible, permet néanmoins une discrimination clinique qui encourage les auteurs. Kowlessar reprend le même principe (108, 109).

L'inhibition totale des P. A. par l'EDTA comme le propose Young dans sa méthode (193) ne semble pas rallier tous les suffrages et est critiquée par Bodansky (25).

L'utilisation de l'ion Ni^{++} comme inhibiteur de la 5' nucléotidase a été démontré par Ahmed (2) pour des extraits placentaires et aortiques. Bien qu'aucune étude n'ait été faite sur le sérum, Campbell utilise le nickel dans le dosage qu'elle propose. Bodansky pense que le nickel inhibe surtout les P. A. d'origine osseuse (25). La technique de Campbell nécessite deux tubes et son automatisation par Hill (76) nécessite deux passages du même sérum.

L'inhibition des P. A. par compétition pour le substrat permet des techniques en un tube mais nécessite l'usage d'un enzyme additionnel : l'ADA. Le substrat de diversion, utilisé à des concentrations environ 150 fois supérieures à celles de l'AMP, peut-être le β glycérophosphate comme l'a proposé Belfield (14), ou le phénylphosphate comme l'a proposé Persijn (141). Ces deux inhibiteurs ont suscité une querelle qui n'est peut-être pas achevée (17, 144). En effet, selon ce principe d'inhibition par compétition, tous les substrats utilisés pour le dosage des P. A. pourraient être utilisés et testés à des pH variables.

3123. Le dosage final

On peut regrouper les différentes techniques de dosage de la 5' nucléotidase en trois groupes :

- . celles qui se terminent par un dosage de phosphore ;
- . celles qui nécessitent une mesure de l'absorption en UV ;
- . celles qui se terminent par un dosage d'ammoniaque.

- Dosage de phosphore

Les techniques utilisant un dosage du phosphore libéré du substrat sont des techniques de sensibilité faible. Il s'agit des techniques de Dixon (42), de Young (193), de Kowlessar (108), de Campbell (31) qui utilisent la technique de dosage du Pi de Fiske et Subbarow à l'aminonaphtol (60).

Pour les techniques en un tube, comme la technique initiale de Persijn sans phénylphosphate (139), il est nécessaire de pratiquer un dosage du Pi endogène. Cette phosphorémie devant être soustrait du Pi total mesuré après incubation ; ce qui en fait donc là encore une technique en deux tubes.

- Mesure de l'absorption en UV

Les mesures de l'absorption en UV nécessitent un spectrophotomètre de qualité permettant une lecture à 265 nm pour l'utilisation des techniques préconisant l'absorptiométrie directe de l'adénosine (10, 14, 117)

et une lecture à 340 nm ou à la rigueur à 366 nm pour les techniques utilisant un couplage au NADH₂ (26, 49). On a par ailleurs intérêt à utiliser une cuve thermostatée et à associer un enregistreur graphique automatique (67) : il s'agit, en effet, là de dosages cinétiques.

La technique de Ellis et Belfield (49) utilisant le NADH₂ est couteuse et nécessite donc un matériel spécial que tout laboratoire de biochimie clinique ne possède pas encore ; les réactions colorimétriques y étant préférées. Toutefois il s'agit peut être là d'une technique d'avenir : après remplacement du glycérophosphate par le phénylphosphate, telle que cela est réalisé dans la technique de Bootsma (26), elle pourrait être commercialisée sous forme de test unitaire ne nécessitant que la dissolution des réactifs par de l'eau distillé et l'adjonction du sérum à étudier pur ou dilué.

- Dosage d'ammoniaque

Le dosage d'ammoniaque proposé par les techniques manuelles de Belfield (13), de Persijn (139) ou par la technique automatique de Jonquier et Nyssen (94), est basé sur la réaction de Berthelot au phénol ('hypochlorite') (20) avec plus ou moins de modifications (4, 33).

La réaction de Nessler utilisée dans d'autres dosages enzymatiques, tels que certains dosages de l'O.C.T. n'a jamais été utilisée pour le dosage des 5' nucléotidases. On sait d'ailleurs que le réactif de Nessler manque de sensibilité et la coloration est fonction de divers facteurs difficile à fixer.

La réaction à la ninhydrine n'est pas non plus utilisée. Si elle ne manque pas de sensibilité, le réactif se conserve mal et la coloration est difficile à stabiliser.

Le dosage d'ammoniaque constitue le mode de réaction finale qui a le moins soulevé de critique en raison de sa fiabilité et de la facilité avec laquelle il est possible de la réaliser dans tout laboratoire d'analyse médicale, la lecture s'effectuant à 625 nm.

3124. Comparaison des différentes techniques

Il n'y a pas d'étude comparative portant sur l'ensemble des méthodes. Hill et Sammons comparent leur technique à celle de Campbell dont elle est une automatisation. Jonquier et Nyssen comparent leur semi-automatisation à la technique initiale de Belfield et lui trouve un excellent coefficient de corrélation : 0,97. Persijn critique la technique de Belfield utilisant le glycérphosphate mais sans étude statistique à l'appui. Il n'y a que Price et Hill (149) qui se livrent à une étude comparée des techniques de Persijn et de Campbell, ils démontrent une plus grande sensibilité de la méthode de Persijn.

313. Conclusion

Au terme de cette étude des différentes techniques du dosage de la 5' Nucléotidase, le choix d'une méthode est difficile pour qu'elle réunisse les qualités suivantes :

- Spécificité pour la 5' nucléotidase ;
- sensibilité ;
- reproductibilité ;
- manipulation relativement simple ;
- prix de revient raisonnable en :
 - . temps,
 - . réa
 - . matériel mobilisé.

Il va de soi que la méthode que nous avons choisi d'expérimenter est un compromis de ces diverses exigences.

32. LA METHODE PROPOSEE

321. Principe

En partant de la méthode de Persijn qui utilise, nous l'avons vu, l'orthophosphate de phénol disodique comme inhibiteur compétitif des phosphatases alcalines non spécifiques, nous utilisons une méthode semi-

automatique de dosage de la 5' nucléotidase sérique, récemment mise au point par R. PLAQUET et G. HENNON (146). Après la réaction enzymatique, on effectue le dosage de l'ammoniaque libéré à l'aide d'un Auto-Analyseur Technicon.

322. Les différents réactifs utilisés

- Réactif n° 1 : Adénosine déaminase (Boehringer)

Solution à 5 mg/ml dans du glycérol et de l'eau à parties égales.

- Réactif n° 2 : solution tampon

Barbital sodique (Merck) 4, 20 g

Sulfate de Magnésium $7 \text{ H}_2\text{O}$ (Merck) 6, 30 g

Eau distillée environ. 800 ml

Amener le pH à 7, 50 avec H Cl 1 N et compléter à 1000 ml avec de l'eau distillée.

Cette solution peut être utilisée pendant 1 mois à condition d'être conservée à + 4° C.

- Réactif n° 3 : mélange tampon - adénosine déaminase

Dissoudre 0, 5 mg d'adénosine déaminase soit 100 μ l de réactif n° 1 dans 150 ml de solution tampon.

Cette solution est stable 2 semaines à + 4° C.

- Réactif n° 4 : mélange substrat - tampon - adénosine déaminase

(A préparer extemporanément)

Adénosine 5' monophosphate disodique $6 \text{ H}_2\text{O}$ (Boehringer) 0, 250 g

Phénylphosphate sel disodique $2 \text{ H}_2\text{O}$ (Merck) 0, 381 g

Réactif n° 3 q. s. p. 100 ml

- Réactif n° 5 solution de phénol sodique - EDTA

Phénol pur cristallisé (Prolabo) 25 g

Soude pure R. P. en pastilles (Prolabo) 0, 1 g

Acide éthylène diaminotétracétique sel disodique $2 \text{ H}_2\text{O}$ (Titriplex III Merck) 4, 15 g

Eau distillée q. s. p. 1000 ml

(L'EDTA sert à complexer le magnésium de la solution tampon qui donnerait un précipité lors de la révélation).

Cette solution doit être renouvelée tous les 2 mois.

- Réactif n° 6 : solution de chlorure de sodium à 9 g pour 1000 ml

- Réactif n° 7 : solution de nitroprussiate de sodium

a) Solution mère :

Nitroprussiate de Sodium R. P. (Prolabo)..... 10 g

Acide Acétique R. P. cristallisable (Prolabo)..... 50 ml

Eau distillée q. s. p. 100 ml

Conservation 1 mois à + 4° C

b) Solution fille

Solution mère..... 1 ml

Eau distillée q. s. p. 200 ml

Conservation 1 semaine à + 4° C

- Réactif n° 8 : solution tampon-phosphate - hypochlorite de sodium :

a) Solution stock

Phosphate disodique $12\text{H}_2\text{O}$ R. P. (Prolabo)..... 180 g

Soude pure R. P. en pastilles (Prolabo)..... 8 g

Eau distillée q. s. p. 700 ml

b) solution phosphate - hypochlorite de sodium (à préparer extemporanément)

Solution hypochlorite de sodium à 40° chlorométrique 8 ml

Tampon phosphate dissous à chaud q. s. p. 100 ml

- Réactif n° 9 : solution standard d'adénosine (3,74 μ moles par ml)

Dissoudre 100 mg d'Adénosine (Merck) dans 100 ml d'une solution saturée d'acide benzoïque.

Cette solution standard est stable pendant plusieurs mois au réfrigérateur (+ 4° C).

323. Technique

3231. Réaction enzymatique

Dans des tubes à hémolyses en plastique neufs placés dans un

bain-marie à 37°, introduire :

REACTIFS	Témoin sérum	Dosage Sérum	Témoin Standard	Standard
Réactif n° 4 : Substrat tampon ADA		1 ml		
Réactif n° 3 ; tampon ADA	1 ml		1 ml	1 ml
Sérum	0,1 ml	0,1 ml		
Réactif n° 9 : Sol. d'Adénosine				0,1 ml
Eau distillée			0,1 ml	

Laisser les tubes très exactement 60 minutes à 37°

3232. Dosage de l'ammoniaque libéré

Le contenu de chaque tube est transvasé dans un godet du préleveur automatique de l'Auto-Analyseur Technicon. Le dosage de l'ion ammonium libéré est réalisé avec le montage schématisé à la page suivante.

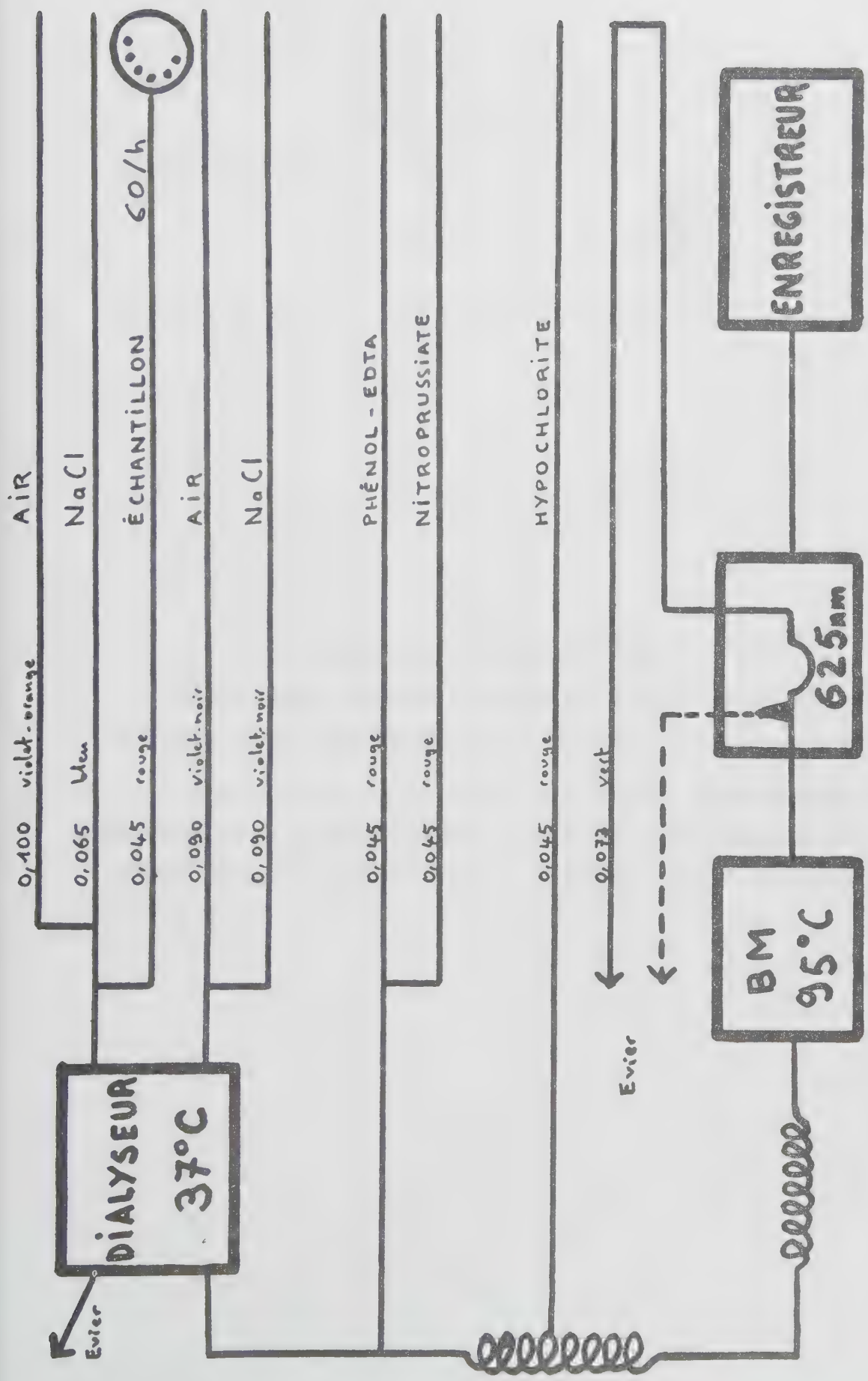
Nous disposons entre chaque témoin et chaque dosage un godet d'eau distillée. La cadence réelle est donc de 15 échantillons à l'heure.

Il est à noter que nous échelonons régulièrement la mise en route des dosages, la réaction enzymatique n'étant pas arrêtée par le retrait du bain-marie à 37° C.

324. Expression des résultats

L'activité est exprimée en unités internationale (UI) par litre de sérum.

Une unité internationale (UI) est représentée ici par le nombre de micro-molécules d'adénosine 5' monophosphate hydrolysées par minute par litre de sérum dans les conditions expérimentales de la réaction. Ce nombre est en principe égal au nombre de micro-molécules d'ammoniaque libérées à partir de l'adénosine sous l'action de l'adénosine déaminase pendant le même temps.



— MONTAGE UTILISÉ POUR LE DOSAGE DES IONS AMMONIUM

$$\text{Résultat en UI / l} = \frac{\left(\begin{array}{c} \text{D.O} \\ \text{Dosage sérum} \end{array} \right) - \left(\begin{array}{c} \text{D.O} \\ \text{Témoin sérum} \end{array} \right)}{\left(\begin{array}{c} \text{D.O} \\ \text{Standard} \end{array} \right) - \left(\begin{array}{c} \text{D.O} \\ \text{Témoin standard} \end{array} \right)} \times 62,33$$

Ce facteur 62,33 tient compte des conditions de la réaction enzymatique.

$$62,33 = \frac{0,374 \times 1000}{0,1 \times 60}$$

0,374 = micromolécules d'adénosine dans le standard

0,1 = ml de sérum

60 = temps en minutes.

325. Etude critique de la méthode proposée

Cette méthode présente l'avantage d'utiliser le même montage que la détermination de l'ammoniémie et de l'ornithine carbamyl-transférase (64).

Quant à l'étude des paramètres de la réaction : concentration en substrat concentration en ion Mg^{++} , action du pH, de la température et de la durée d'incubation, de la conservation des sérums, elle fera l'objet d'une publication ultérieure (146).

4 - ANALYSE DES RESULTATS

41. - MATERIEL ET METHODE

411. Recrutement des malades

Nous nous sommes particulièrement intéressé aux sujets présentant une affection hépato-biliaire principalement dans les jours qui précédèrent une intervention chirurgicale ou une ponction biopsie hépatique (PBF) ; la vision macroscopique et histologique des lésions permettant une approche diagnostique plus précise.

Nous avons également retenu les sujets présentant une affection osseuse avec ou sans élévation des PA, et également un lot de sujets de tous âges ne présentant ni affection osseuse ni trouble hépato-biliaire.

Une place à part a été réservée aux sujets éthyliques avec ou sans atteinte hépatique. Ces éthyliques sont relativement nombreux puisqu'ils représentent environ le tiers de nos observations.

412. Bilan proposé

Chez tous les sujets retenus, en raison de leurs troubles cliniques, on a dosé :

- la 5'N, par la méthode précédemment décrite,
- les PA, par la technique au phénolphtaleïne phosphate.

Un bilan hépatique standard a été effectué chez la quasi totalité des sujets, ce bilan comprenait :

- le dosage de la bilirubine totale,
- le dosage des transaminases (SGOT et SGPT)
- le dosage du cholestérol total,
- le dosage des lipides totaux,
- l'électrophorégramme des protéines sériques.

Dans un certain nombre de cas le dosage d'enzyme particulier a complété ce bilan :

- l'ornithyl-carbamyl transferase (O C T)
- la leucine aminopeptidase (LAP)
- la gammaglutamyl transpeptidase (γ G T).

Chaque fois que les impératifs diagnostiques l'exigèrent le bilan fut complété par :

- une laparoscopie avec P B F,
- une scintigraphie hépatique,
- une artériographie sélective (coeliaque ou hépatique propre).

413. Classification par maladie

Au terme de l'examen clinique, du bilan biologique, anatomo-pathologique et radiologique les malades ont été répartis dans des groupes de diagnostic classique. Le chiffre de 5'N n'entrant jamais en ligne de compte pour cette classification.

414. Etude statistique

Elle fait appel à des notions simples exposées dans le livre de D. Schwartz : "Méthodes statistiques à l'usage des médecins et des biologistes" (162).

415. Répartition des dosages de 5'N effectué

La technique proposée pour le dosage de la 5'N sérique nous a permis de réaliser environ 850 dosages qui se répartissent de la façon suivante :

- 84 dosages chez des adultes sains (15 femmes et 69 hommes),
- quelques dosages chez des femmes enceintes de plus de 28 semaines, illustrant l'évolution du taux de la 5'N lors de cet état physiologique,
- environ 750 dosages chez 585 malades dont les observations sont numérotées de 1 à 585.

42. TAUX NORMAL ET VARIATIONS PHYSIOLOGIQUES

421. Taux de la 5'N chez 15 femmes "Donneurs de Sang"

- moyenne	:	9,36	UI/l
- variance	:	2,82	
- écart-type	:	1,67	
- erreur standard	:	0,43	

422. Taux de la 5'N chez 69 hommes "Donneurs de Sang"

- moyenne	:	9,95	UI/l
- variance	:	10,72	
- écart-type	:	3,27	
- erreur standard	:	0,39	

Il faut remarquer que 8 de ces sujets présentent un ou plusieurs tests hépatiques perturbés, si l'on fait abstraction de ces sujets, les résultats sont les suivants pour les 61 restants :

- moyenne	:	9,30	UI/l
- variance	:	4,74	
- écart-type	:	2,17	
- erreur standard	:	0,27	

La comparaison, d'une part entre les moyennes des 15 femmes et des 61 hommes, et d'autre part entre les moyennes des 15 femmes et de l'ensemble des 69 hommes par le test "t" ne montre pas de différence significative.

Il ne semble pas exister de différence du taux de 5'N selon le sexe.

On peut donc prendre comme valeur normale de la 5'N sérique :

moyenne $\pm$ (2 x écart-type)

9,95 $\pm$ (2 x 3,27)

En pratique nous considérerons donc comme anormaux les taux dépassant 16,5 UI/l, ce qui est le cas 3 fois sur 69 hommes c'est-à-dire dans 4,3 %, et si nous considérons nos 84 sujets témoins ce taux est dépassé dans 3,5 % des cas.

L'histogramme de nos 84 dosages témoins effectués chez 15 femmes et 69 hommes, montre une répartition selon une distribution asymétrique unimodale, par contre il semble que la distribution du logarithme du taux de 5'N chez nos 84 sujets témoins se fasse selon un mode gaussien.

Ce groupe de 84 sujets normaux nous a permis également de fixer les valeurs normales pour les autres dosages du bilan :

- PA

moyenne : 2,25 UB/100 ml

variance : 0,94

écart-type : 0,97

Limite supérieure de la normale : 4,20 UB/100 ml

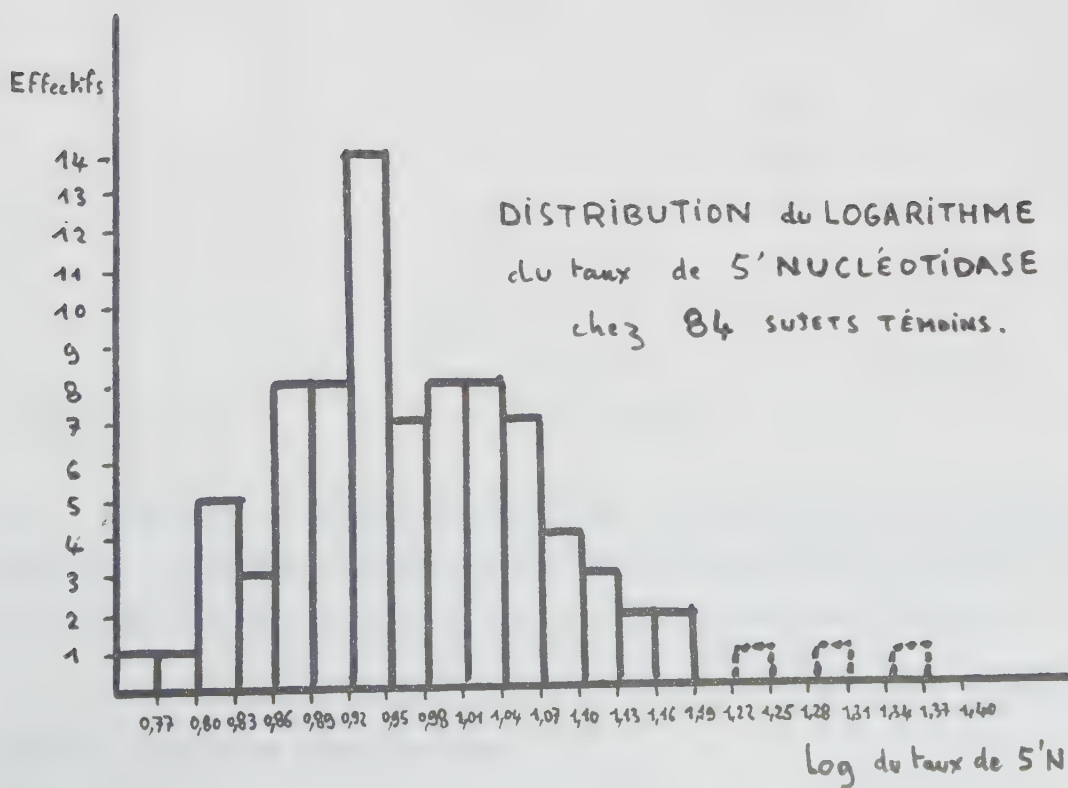
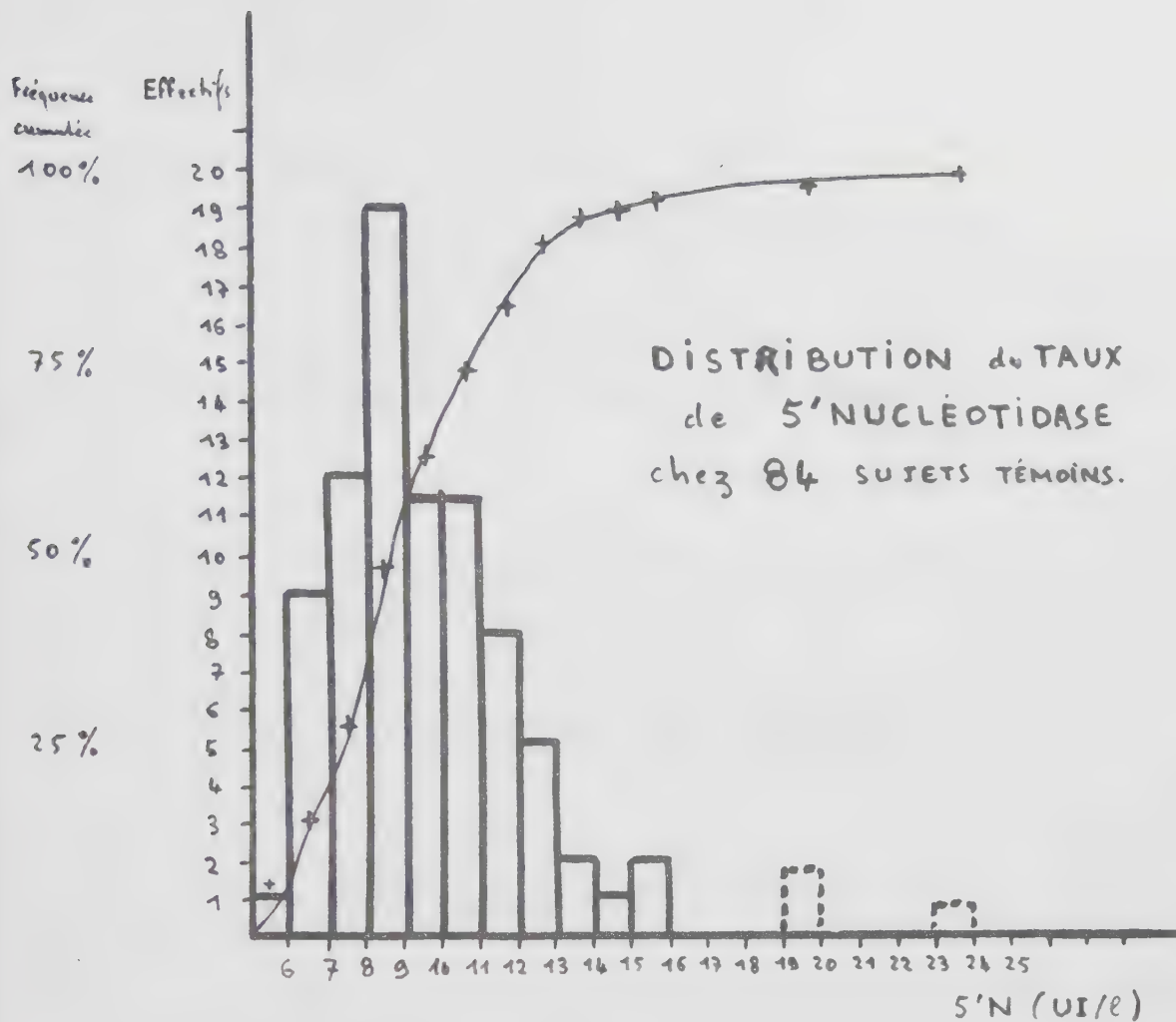
- Bilirubine totale :

moyenne : 9,60 mg/l

variance : 20,3

écart-type : 4,5

Limite supérieure de la normale : 18,61 mg/l



- SGOT :

moyenne : 22,36 Unités Reitman-Frankel/ml

variance : 109

écart-type : 10,4

Limite supérieure de la normale : 43,16 URF/ml

- SGPT :

moyenne : 21,73 Unités Reitman-Frankel/ml

variance : 203,7

écart-type : 14,2

Limite supérieure de la normale : 50,13 URF

423. Taux chez quelques femmes enceintes.

La 5'N a été dosée chez 6 femmes enceintes au cours du troisième trimestre de la gestation ; l'âge de la grossesse s'échelonnait de 31 à 39 semaines. Nous avons obtenu les résultats suivants :

5'N (UI/l)	PA (UB/100 ml)	Age de la gestation (en semaine)
6	4,5	31
7	3,6	37
7	4,6	32
6	7,9	34
8	7,8	37
7	12,9	39

moyennes : 6,83 UI/l

6,88 UB/100ml

Ces quelques valeurs rejoignent les résultats établis par Seitaniadis et Moss (168). Ces auteurs avaient démontré en étudiant 52 grossesses que le taux de 5'N ne se modifiait pas pendant la gravidité contrairement à celui des P.A.

Toutefois il faut remarquer que dès le début du travail les valeurs trouvées ne sont plus interprétables.

424. Taux chez 46 enfants en bas âge

Il s'agit d'un groupe de 46 enfants de 3 à 18 mois hospitalisés pour une affection respiratoire haute ou digestive. Dans ce groupe on trouve les valeurs suivantes :

- moyenne : 13,38 UI/l
- variance : 22,58
- écart-type : 4,75

alors que la moyenne des PA est de 13,86 UB/100ml.

Ces valeurs plus élevées que celles de l'adulte peuvent s'expliquer par le fait que 3 enfants présentent des taux élevés respectivement à 21,8 : 27,7 et 32,2 UI/l. Si l'on excepte ces sujets, pour lesquels nous n'avons d'ailleurs pas de bilan hépatique, les valeurs sont pour les 93,4 % restant :

- moyenne : 12,42 UI/l
- variance : 10,08
- écart-type : 3,17

et il existe une différence très légère mais cependant statistiquement significative entre la valeur de cette moyenne et celle des adultes.

Si l'on doit tenir compte de ces valeurs, le taux supérieur de 5' N serait chez l'enfant de $12,42 + (2 \times 3,17) = 18,76$ UI/l, soit 13 % supérieur à celui admis chez l'adulte. Rappelons d'autre part que les PA sont quant à elles augmentées de 150 % c'est-à-dire deux fois et demie la valeur supérieure admise chez l'adulte.

Notre groupe étant formé d'enfants malades et non de sujets sains, le taux de 5'N est difficile à interpréter d'autant qu'il est opposé aux résultats de Beldfield et Goldberg (18) qui trouvent un taux 5'N plus bas chez l'enfant que chez l'adulte.

43. ETUDE DES RESULTATS OBTENUS DANS DIVERS GROUPES
PATHOLOGIQUES.

431. Les syndromes de rétention biliaire

Nous regroupons sous le terme de syndromes de rétention biliaire :

- les lithiases du cholédoque, le plus souvent prouvées chirurgicalement, qu'elles s'accompagnent ou non d'ictère ;

- les autres obstructions extra-hépatiques : cancer des voies biliaires, compression du hile hépatique ou du cholédoque pendant sa traversée pancréatique dont le diagnostic fut prouvée par la laparotomie, et un certain nombre d'ictères par rétention dont l'étiologie ne fut que suspectée en raison du refus de l'acte chirurgical par des malades souvent âgés ;

- enfin un groupe d'hépatite cholestatiques.

L'étendue globale de ces rétentions biliaires comprend 28 observations et 42 dosages. Les valeurs moyennes sont les suivantes :

5'N = 127,66 UI/l

PA = 38,51 UB/100 ml

Bilirubine = 75,50 mg/l

En ce qui concerne la 5'Nucléotidase :

variance = 185,13

écart-type = 136

cette valeur de l'écart-type s'explique en raison de la grande dispersion des valeurs qui s'échelonnent de 23,7 à 660 UI/l.

Il existe entre 5'N et P A une liaison certaine puisque le coefficient de corrélation observé est :

$$r = 0,867$$

et la droite de régression entre les 5'N et les P. A. de forme $(y = ax + b)$ a pour paramètres $a = 1,68$ et $b = 24,46$ donc :

$$5'N \text{ (UI/l)} = 2,68 \cdot \text{PA (UB/100 ml)} + 24,46$$

D'autre part en ce qui concerne la bilirubine :

variance : 4891,75

écart-type : 69,94

cette valeur s'explique par le fait que certains malades sont anictériques et que les valeurs s'échelonnent de 8 à 315 mg./l. Il n'y a pas de liaison avec la 5'N:

$$r : 0,313$$

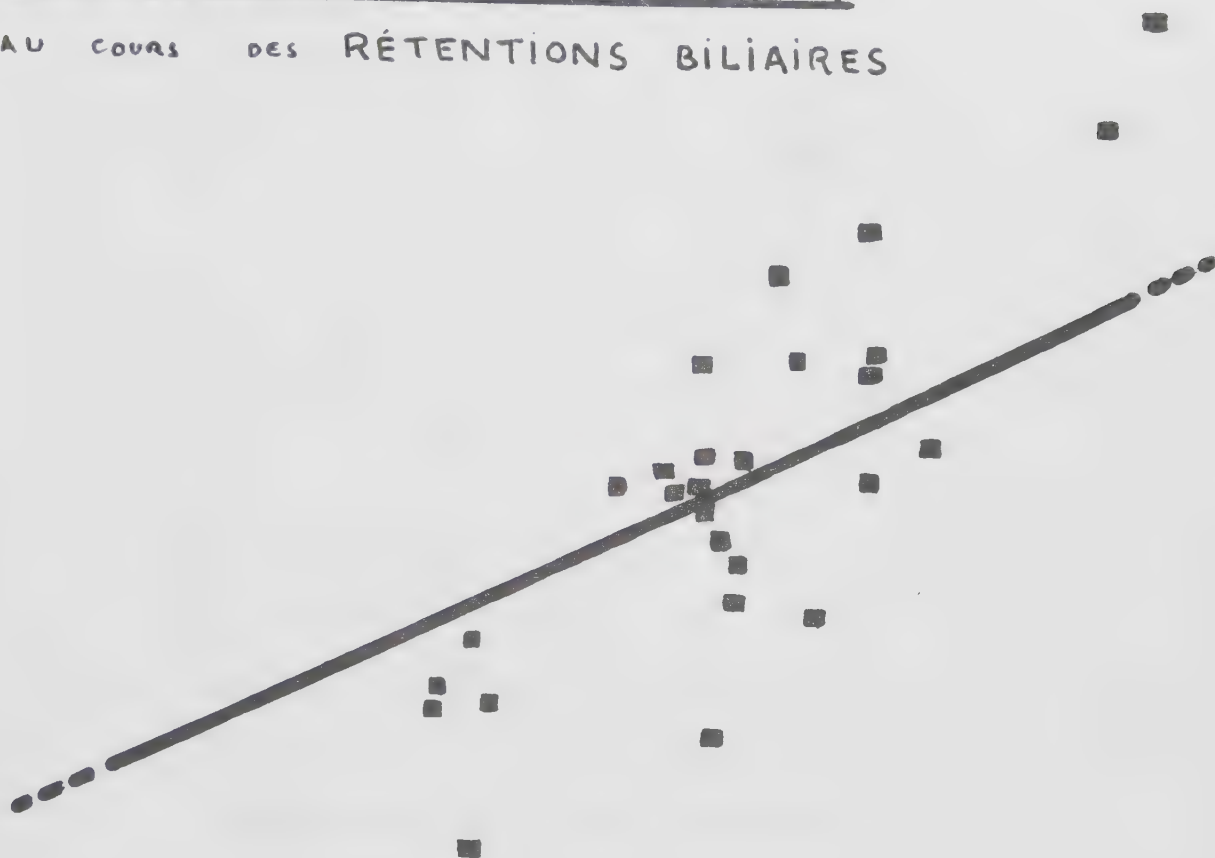
contrairement à ce que trouvent certains auteurs (134) qui envisagent vraisemblablement les ictères par rétention et non pas l'ensemble des syndromes de rétention biliaire.

4311. Les calculs du cholédoque.

Les lithiases cholédociennes au nombre de 8 correspondent aux observations suivantes :

CORRÉLATION 5'N PA

AU COURS DES RÉTENTIONS BILIAIRES



$$r = 0,867$$

$$5'N = 2,68 PA + 24,46$$

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 20 30 40 50 100 150

PA (UB/100ml)

Tableau des principaux dosages effectués au cours de 8 lithiases du cholédoque

N° de l'observation	5'N UI/l	PA UB/100ml	Bili. mg/l	SGOT URF/ml	SGPT URF/ml
25	36, 8	8, 5	44	144	195
28	51, 9	34, 2	155	66	135
132	35, 3	48	15	110	270
145	59, 2	29, 1	10	95*	42*
295	96, 6	27, 4	66	67	123
324	74, 8	26, 1	11, 5	41	81
399	104, 6	16, 8	8	33	24
535	39, 6	11, 7	15	36	37

* résultats exprimés en unités internationales.

Les valeurs moyennes sont les suivantes :

5'N : 102, 00 UI/l
P A : 25, 20 UB/100 ml
Bili. : 40, 50 mg/l

Cinq lithiases cholédociennes ne présentent pas d'ictère leurs valeurs moyennes sont :

- 5'N : 126, 30 UI/l
- P A : 26, 30 UB/100 ml
- Bili. : 11, 90 mg/l

Trois lithiases cholédociennes présentant un ictère et ont les valeurs moyennes suivantes :

- 5'N	: 61,70 UI/l
- P A	: 26,30 UB/100 ml
- Bili	: 88,30 mg/l

D'après les valeurs précédentes, on pouvait voir avant l'étude statistique qu'il n'y avait pas de relation entre les taux de 5'N et de bilirubine. De plus, la bilirubine est normale lors d'authentiques lithiases cholédociennes.

Dans notre observation n°399, un syndrome douloureux de l'hypochondre droit chez une femme de 75 ans fait suspecter une lithiase vésiculaire. Il n'y a ni fièvre, ni ictère.

5'N	: 104,60 UI/l
P A	: 16,80 UB/100 ml
Bili.	: 8,00 mg/l

15 jours après, les chiffres sont les suivants :

5'N	: 185,60 UI/l
P A	: 36,00 UB/100 ml
bili	: 3,00 mg/l

La malade est opérée, on pratique la cholécystectomie d'une vésicule scléro-atrophique et on enlève cinq calculs cholédociens qui ne gênant pas l'écoulement biliaire, n'en provoquaient pas moins un syndrome de rétention comme l'atteste le taux des 5'N.

Au lendemain de l'intervention on a les chiffres suivants :

5'N	: 66 UI/l
P A	: 20,4 UB/100 ml
bili	: 4,5 mg/l

Il semble que lors de la levée de l'obstacle cholédocien, la baisse du taux des 5'N soit plus précoce que celle des PA.

4312. Les ictères par obstruction extra-hépatique en dehors des lithiases cholédociennes.

Ces 12 ictères correspondent aux observations n° 2, 43, 190 ; 392, 396, 537, 540, 541, 545, 546, 551, 554.

Les valeurs moyennes sont les suivantes :

5'N : 146 UI/l
P A : 44, 3 UB/100 ml
bili : 77, 8 mg/l

Résultats des principaux dosages effectués au cours de 12 obstructions extra-hépatiques non lithiasique.

N° de l'observation	5'N UI/l	P A UB/100ml	Bili mg/l	SGOT URF/ml	SGPT URF/ml
2	35, 7	11, 6	164		
43	152, 4	34, 5	115	204	147
190	660	196	110	225	115
392	23, 7	10, 1	65	175	270
396	116, 4	50, 5	20, 5	34	27
537	28	25, 2	160	57	47
540	175, 3	22, 4	63	170	165
541	73	20, 2	29	47	64
545	92	55, 5	39	91	42
546	89, 3	19, 2	21	62	56
551	165	46, 8	40	60	30
554	141	40	107	80	75

Notre observation n° 43 est celle d'un malade présentant un cancer du hile hépatique.

La veille de l'intervention chirurgicale les 5'N sont à 275 UI/l, 24 heures après la dérivation bilio-digestive le taux n'est plus que de 152 UI/l, cela montre la rapidité avec laquelle la levée de l'obstacle réagit sur le taux de 5'N.

L'observation n° 190 est celle d'un cancer du pancréas vu à un stade tardif, les chiffres sont les suivants :

5'N : 660 UI/l
P A : 196 UB/100 ml
Bili. : 110 mg/l

Le taux de 660 UI /l est le plus élevé que nous ayons enregistré, il est égal à 40 fois la limite supérieure de la normale et, est également le taux le plus élevé de la littérature.

4313. Les hépatites cholostatiques

Les rétentions intrahépatiques présentent, lorsqu'elles sont majeures, ses chiffres de 5'N qui ne les distinguent aucunement des rétentions extrahépatiques.

Il en est ainsi de nos 8 hépatites cholostatiques dont les observations correspondent aux numéros 10, 47, 55, 122, 189, 511, 562 et dont les valeurs moyennes sont les suivantes :

5'N : 125,8 UI/l
P A : 43,1 UB/100 ml
Bili : 113,4 mg/l

Résultats des principaux dosages effectués au cours de huit
hépatites cholostatiques

N° de l'observation	5'N UI/l	P A UB/100ml	Bili mg/l	SGOT URF/ml	SGPT URF/ml
10	42,4	10,5	43	306	480
47	35	10,3	23	34	26
55	365	178	315	180	144
72	90,8	30,9	41	90	78
122	69,3	20,2	34	54	95
189	57,7	39	22	70*	35*
511	242	36	268	105	80
562	104	19,8	161	700	415

* Résultat exprimé en unité internationale.

Notre observation n° 47 illustre cette ambiguïté quant à l'origine hépatique ou extra-hépatique de la rétention. On assiste à la constitution d'un ictère rétionnel, les chiffres au premier examen sont les suivants :

5'N : 35 UI/l

P A : 10,3 UB/100 ml

un mois après on note :

5'N : 122,8 UI/l

P A : 26 UB/100 ml

enfin deux mois après l'examen initial :

5'N : 146,7 UI/l

P A : 32 UB/100 ml

Cette malade présentant une neurofibromatose de Von Ricklinghausen, il était difficile de faire la part d'une cholestase post-hépatique ou d'une compression du hile hépatique par une maladie particulièrement évolutive puisqu'ayant nécessité il y a quelques années une intervention neuro-chirurgicale pour une localisation occipitale expansive.

En fait, la laparoscopie et la PBF était en faveur de l'hépatite cholestatique. La maladie anictérique devait être de nouveau hospitalisée après 6 mois d'évolution pour une crise comitiale vraisemblablement en rapport avec une nouvelle localisation de sa neurofibromatose.

432. Les Hépatites

Les hépatites cholestatiques précédemment étudiées sont exclues de ce paragraphe qui comprend surtout des hépatites virales, puis quelques hépatites d'autres origines et enfin quelques hépatites chroniques.

Les moyennes obtenues à partir de 104 dosages fournissent les chiffres suivants :

5'N : 58,46 UI/l

P A : 18,70 UB/100 ml

4321. Les hépatites virales.

C'est dans le groupe des hépatites virales que la répétition du dosage de la 5'N a surtout été effectuée.

Les 46 observations d'hépatites virales diagnostiquées sur l'ictère et la cytolýse, regroupent 90 dosages :

CORRÉLATION entre 5'N et PA

au cours des HÉPATITES VIRALES



$$r = 0,686$$

$$5'N = 3,21 PA - 7,13$$

PA (UB/100ml)

- 20 observations comportent 1 seul dosage,
- 10 observations en comportent 2,
- 6 observations en comportent 3,
- 5 observations en comportent 4,
- 1 observation en comporte 5,
- 1 observation en comporte 7.

Ces 90 dosages permettent de déterminer les valeurs suivantes :

moyenne de la 5'N : 52,15 UI/l

variance : 2354

écart-type : 48,51

moyenne des P A : 18,47 UB/100 ml

variance : 107,63

écart-type : 10,37

La liaison entre les 5'N et les P A s'exprime par le coefficient de corrélation observé :

r : 0,686

une corrélation positive existe donc entre le taux des 5'N et celui des P. A. mais elle n'est pas excellente.

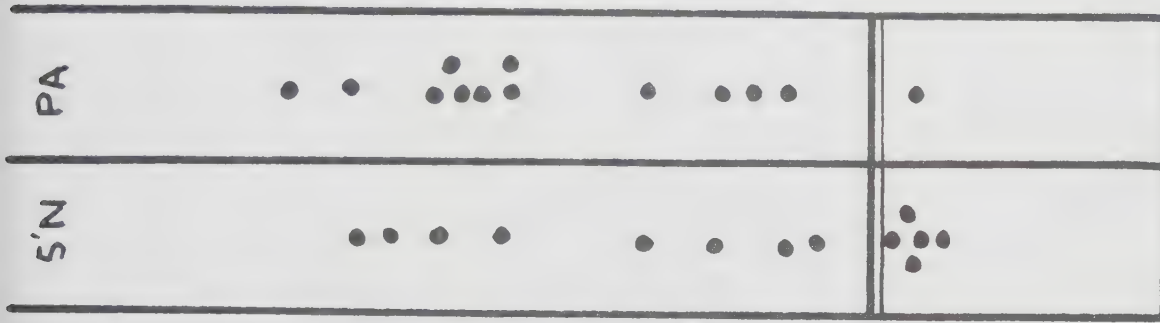
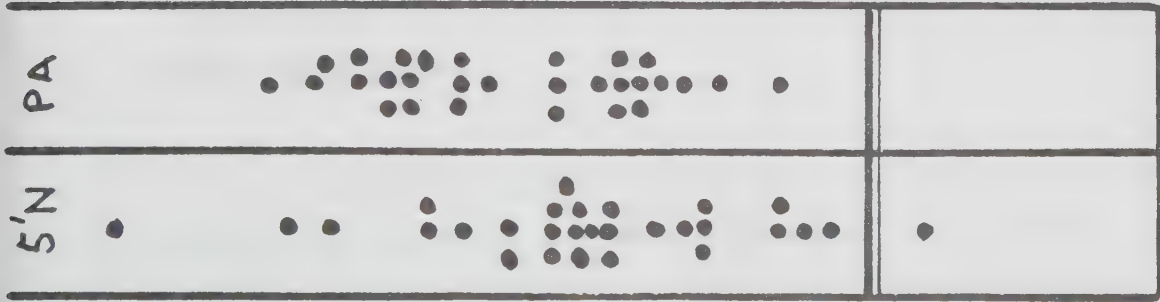
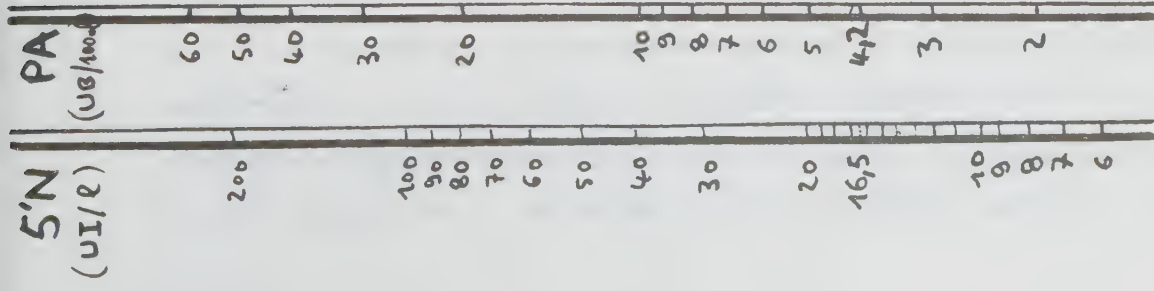
La droite de régression des 5'N par rapport aux P A est de la forme $y = ax + b$ et a pour paramètres $a = 3,21$ et $b = -7,13$ donc :

5'N (UI/l) = $3,21 \cdot \text{PA (UB/100 ml)} - 7,13$.

Etant donné l'évolution de l'hépatite virale il est peut-être plus intéressant de répartir les dosages selon l'âge de l'hépatite évalué en nombre de semaines à partir de l'apparition de l'ictère, nous avons ainsi :

- 29 dosages au cours de la 1ère semaine
- 29 au cours de la 2ème semaine,
- 14 au cours de la 3ème semaine,
- 8 au cours de la 4ème semaine,
- 7 au cours du 2ème mois,

puis quelques dosages ultérieurs.



1^{ère} semaine 2^{ème} semaine 3^{ème} semaine 4^{ème} semaine
 TAUX des 5'N et des PA au cours de l'évolution des HÉPATITES VIRALES

Nous avons obtenu les moyennes suivantes :

1ère semaine : 5'N : 63, 25 UI/l

PA : 20, 00 UB/100 ml

2ème semaine : 5'N : 56, 17 UI/l

PA : 21, 83 UB/100 ml

3ème semaine : 5'N : 39, 86 UI/l

PA : 17, 15 UB/100 ml

4ème semaine : 5'N : 34, 36 UI/l

PA : 16, 25 UB/100 ml

2ème mois : 5'N : 45, 30 UI/l

PA : 9, 68 UB/100 ml

Toutefois cette classification en nombre de semaines est difficile à réaliser en raison de l'imprécision de la date d'apparition de l'ictère lorsque celui-ci est apparu avant l'entrée à l'hôpital ; c'est pourquoi nous nous sommes attaché pour certaines de nos observations à suivre l'évolution de la 5'N au cours de l'affection. Il en est ainsi des observations n° 427, 442, 444, 453, 455 où la surveillance des taux de la 5'N, des PA, des transaminases SGOT et SGPT, ainsi que de la bilirubine permet d'aboutir aux conclusions suivantes :

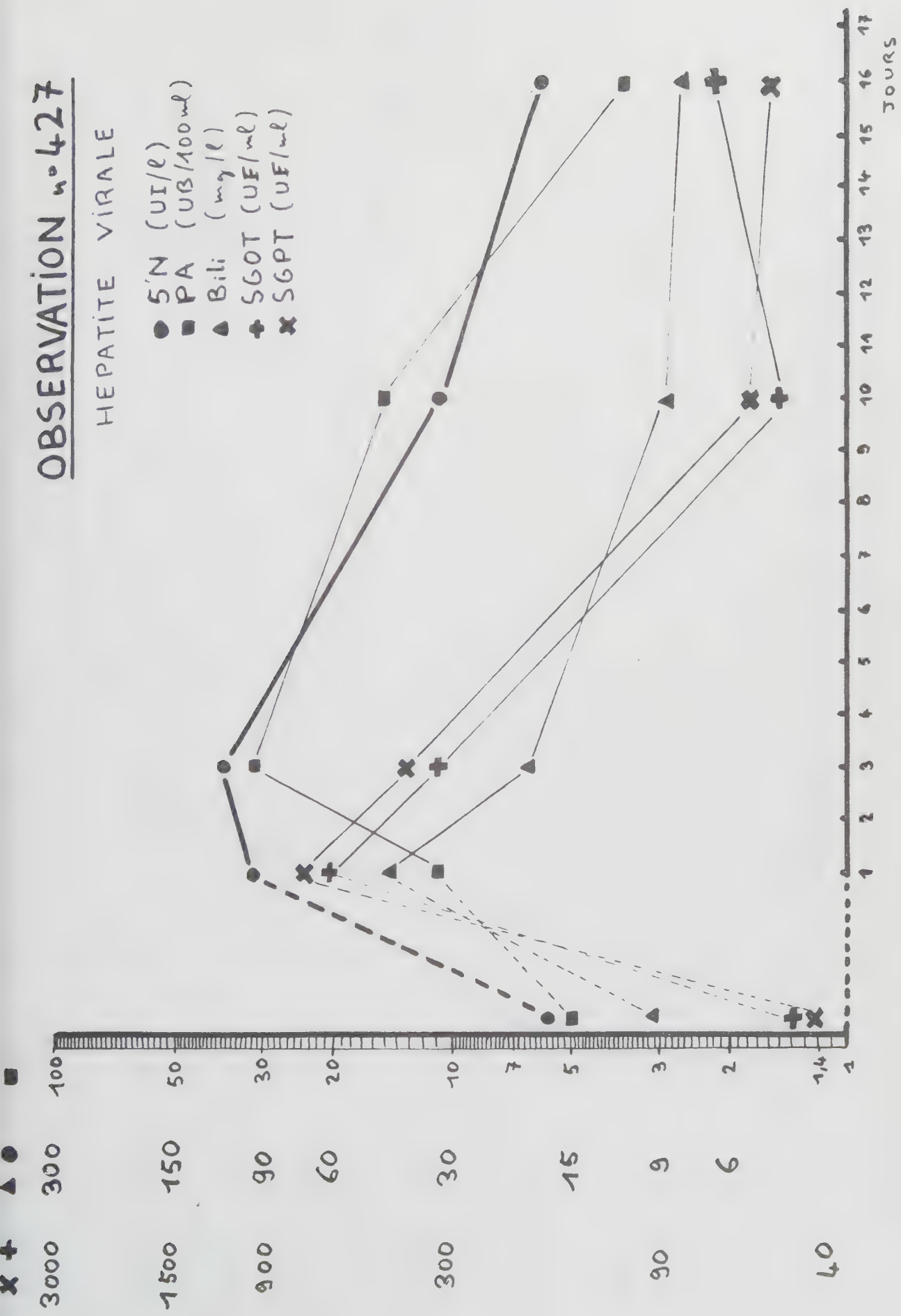
- Lors des hépatites virales le taux le plus élevé de 5'N précède généralement la phase de cytolysse la plus intense, tout au moins lorsque le nombre de dosages est suffisant et ceux-ci suivis précocement pour saisir cette phase de début ;

- en première approximation les taux de 5'N et de PA évoluent parallèlement au cours de l'hépatite. Toutefois au début de celle-ci la 5'N semble proportionnellement plus élevée que les PA, où s'élève plus précocement, alors qu'en fin d'évolution, l'élévation des P A semble persister

OBSERVATION n°427

HEPATITE VIRALE

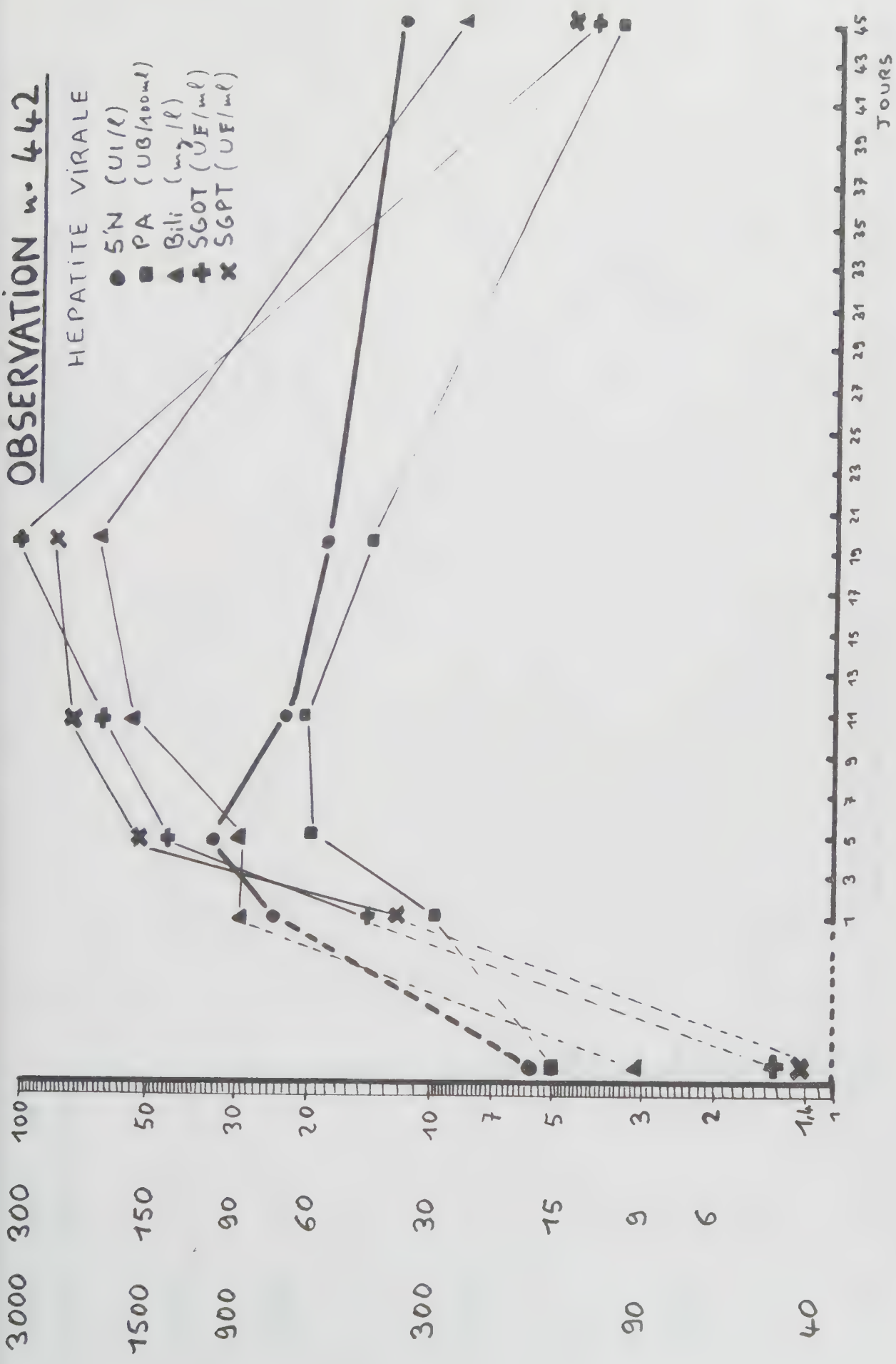
- 5'N (UI/l)
- PA (UB/100ml)
- ▲ Bili (mg/l)
- + SGOT (UE/ml)
- x SGPT (UE/ml)



OBSERVATION n. 442

HEPATITE VIRALE

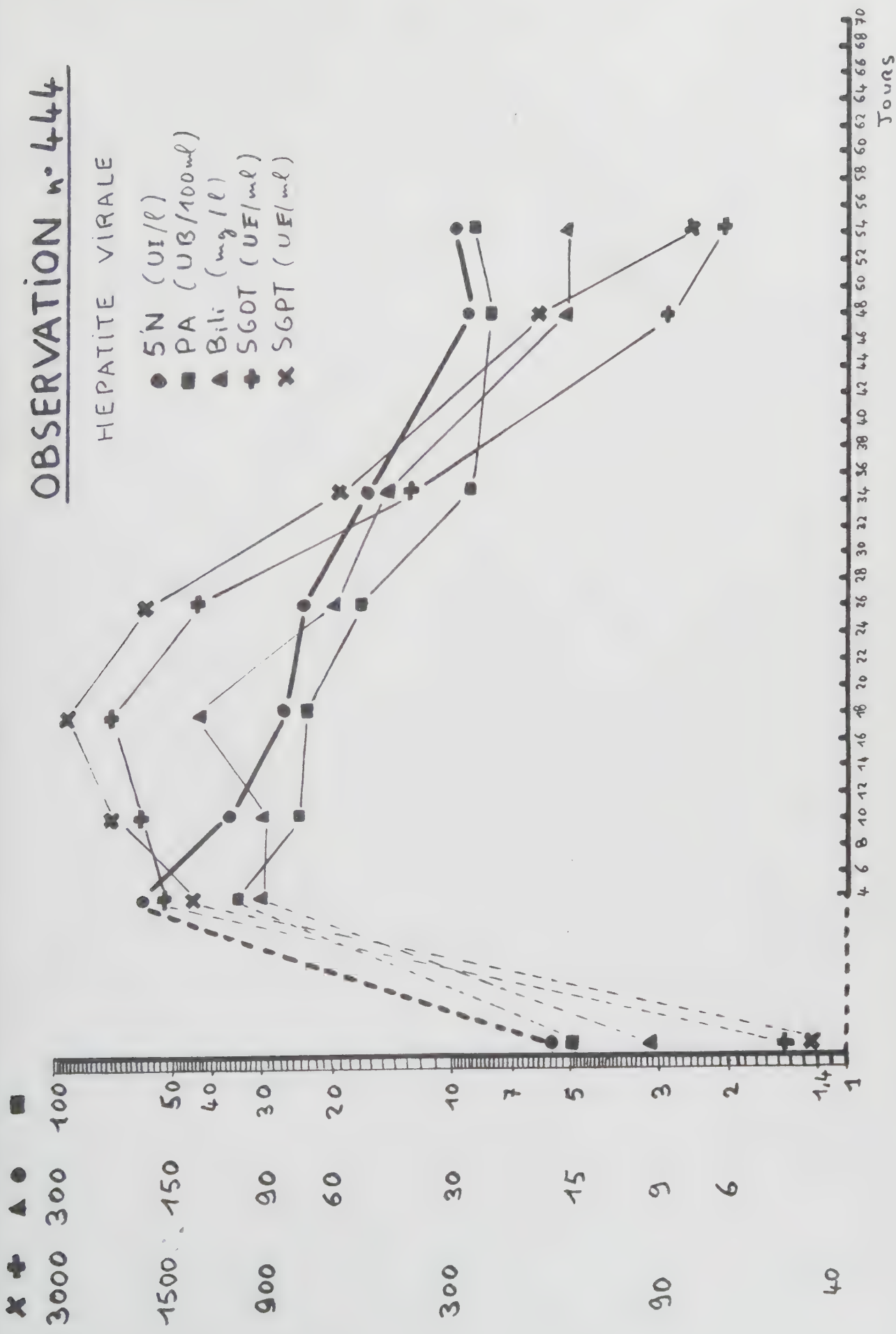
- 5'N (UI/l)
- PA (UB/100ml)
- ▲ Bili (mg/l)
- + SGOT (UE/ml)
- x SGPT (UE/ml)



OBSERVATION n° 444

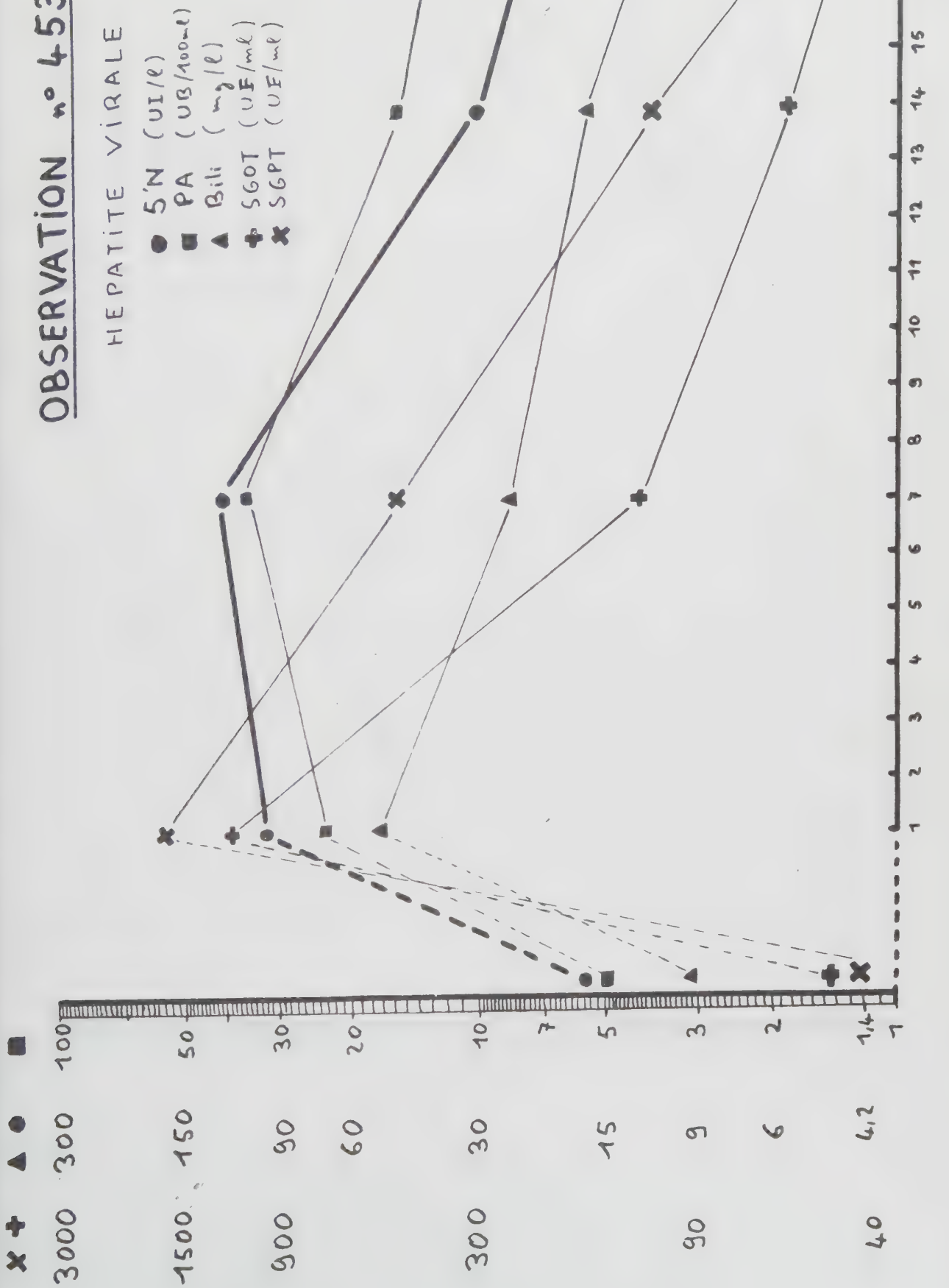
HEPATITE VIRALE

- 5'N (UI/l)
- PA (UB/100ml)
- ▲ Bili (mg/l)
- ✚ SGOT (UE/ml)
- ✕ SGPT (UE/ml)



OBSERVATION n° 453

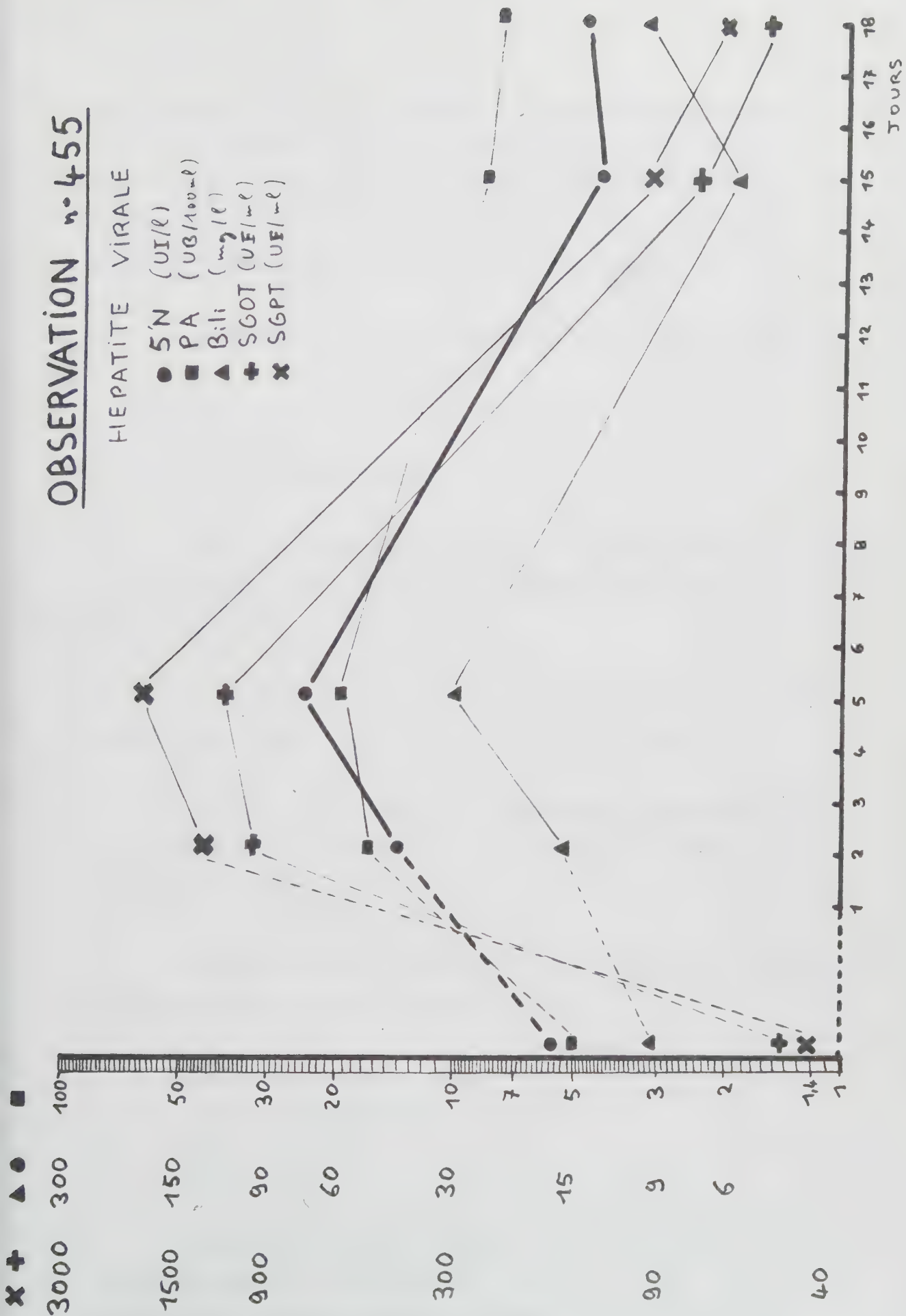
HEPATITE VIRALE



OBSERVATION n°455

HEPATITE VIRALE

- 5'N (UI/l)
- PA (UB/100ml)
- ▲ Bili (mg/l)
- + SGOT (UE/ml)
- x SGPT (UE/ml)



plus longtemps, alors que la bilirubine et les transaminases retournent à leur valeur de base. Cette persistance de l'élévation des P A n'étant pas constante, il convient d'envisager une participation osseuse : nos observations n° 453 et 455 où se fait est observé, sont celles d'enfants en pleine croissance, âgés respectivement de 9 et 4 ans :

- il existe une totale indépendance de la 5'N et de la bilirubine.

4322. Hépatites diverses

Trois de nos observations sont celles d'hépatites diverses : 2 hépatites éthyliques aiguës et une hépatite granulomateuse, toutes sont confirmées par la PBF.

L'observation n° 182 est celle d'une hépatite éthylique à la phase aiguë : les 5'N sont à 135,57 UI/l, les PA à 45 UB/100 ml.

L'observation n° 134 est celle d'une hépatite aiguë éthylique, un mois et demi après l'hospitalisation les chiffres sont normaux en dépit d'un foie de stéatofibrose.

L'observation n° 35 est une hépatite granulomateuse vraisemblablement tuberculeuse, on a les valeurs suivantes :

5'N : 33,30 UI/l

PA : 5,90 UB/100 ml

Bili. : 14 mg/l

pas de cytolyse.

Le taux de la 5'N est là l'élément le plus perturbé puisqu'il est doublé par rapport à la limite supérieure admise alors que le reste du bilan biologique est subnormal, montrant la grande sensibilité de ce dosage.

4323. Hépatites chroniques

Six observations correspondent à des hépatites chroniques et comptent 11 dosages dont les moyennes sont les suivantes :

5'N : 109,79 UI/l

PA : 10,98 UB/100 ml

Lorsque le terme d' "hépatite : agressive" est utilisé dans le compte rendu histologique, les valeurs de la 5'N sont fort élevées, respectivement : 223 ; 316 et 391 UI/l.

Les PA sont respectivement à 29 ; 76 et 65,5 UB/100 ml, les malades sont ictériques mais la cytolyse est modérée. Par contre, lorsque la PBF fait état d'une "hépatite chronique persistante" les valeurs de la 5'N s'apparentent à celles trouvées pour l'hépatite virale commune :

5'N : 25,74 IU/l

PA : 6,15 UB/100 ml

Bili : 17,12 mg/l

Donc en fin d'hépatite ou dans les suites de celle-ci, un taux de 5'N qui s'élève modérément serait en faveur d'une persistance ou d'un passage de l'hépatite cholostatique si la bilirubine est élevée, alors qu'un taux franchement élevé de 5'N serait en faveur d'une hépatite agressive s'il accompagne un syndrome inflammatoire important.

433. Pathologie biliaire et pancréatique.

En dehors des rétentions biliaires par obstruction extra-hépatiques ou par hépatites cholostatiques, nous avons étudié un groupe de 49 observations d'affections biliaires et pancréatiques comprenant 59 dosages.

4331. Coliques hépatiques

Résultats des principaux dosages effectués au cours de
12 coliques hépatiques.

N° de l'observation	5'N UI/l	PA UB/100ml	Bili mg/l	SGOT URF/ml	SGPT URF/ml
11	11, 8	2, 2	23	30	29
104	11, 3	1, 8	6	22	16
126	12, 3	2, 2	12	50	43
147	20, 7	2, 7	7	45	25
152	31	16, 8	22, 5	40	38
260	10, 7	1, 5	5	37	20
266	14, 3	5, 8	11	41	50
272	20	13, 5	7, 5	52	60
316	22, 2	2, 9	5	38	25
340	13, 7	3, 2	7, 5		
516	7, 6	1, 2	5	24	14
547	12, 6	1, 4	7	37	72

Dans ce groupe de coliques hépatiques simples, sans aucune lithiase mise en évidence, nous avons les chiffres moyens suivants sur 12 observations :

5'N : 15, 69 UI/l

PA : 4, 60 UB/100 ml

La 5'N est élevée dans un tiers des cas où l'on trouve les valeurs suivantes :

20 ; 20, 70 ; 22, 70 ; 22, 20 ; et 31 UI/l ; c'est-à-dire des valeurs inférieures au double de la limite supérieure des valeurs de référence. Les P A quant à elles, sont élevées dans un quart des cas dont une fois avec un chiffre de 5'N normal.

4332. Lithiases vésiculaires

Résultats des principaux dosages effectués au cours de
17 lithiases vésiculaires

N° des observations	5'N UI/l	PA UB/100ml	Bili mg/l	SGOT URF/ml	SGPT URF/ml
3	47, 5	7	11	31	51
15	13, 8	5, 5	50	35*	30*
30	13, 8	1, 6	13	27	43
31	14, 5	4, 5	15	24	17
39	37, 8	5	10	41*	31*
59	37, 2	3, 4	8	28	23
141	8	2, 2	14	17	13
191	16, 6	2, 5	9	82*	30*
251	9	1, 4	19	32	19
276	14, 9	4, 5	8	35	78
320	12, 6	2, 6	23	30	20
505	63, 4	22	31, 5	150	83
536	28, 9	9, 9	6, 5	40	50
538	23	6	7	59	83
539	26	7, 7	6, 5	87	121
542	19	7, 6	7	40	41
567	27, 6	6, 4	5	30	34

* résultat exprimé en unité internationale.

Dans ce groupe de 17 lithiases vésiculaires prouvées radiologiquement dont certaines subirent une cholécystectomie, nous trouvons les valeurs moyennes suivantes :

5'N : 24, 35 UI/l

P A : 5, 40 UB/100 ml

Si l'élévation est modérée pour les PA, elle est de près de 50 % de la valeur maximale admise pour la 5'N et parfois cette élévation est beaucoup plus importante.

Dans notre observation n° 505, la 5'N est à 63,40 UI/l la lithiase vésiculaire est évidente radiologiquement et cliniquement les troubles digestifs et le syndrome douloureux fait parler de coliques hépatiques : mais dans les antécédents de cette malade on note un cancer du sein avec actuellement un envahissement axillaire et cervical, donc en plus de la colique hépatique par lithiase vésiculaire il était possible d'évoquer :

- une métastase osseuse, les PA étant à 12 UB mais il n'y avait aucun signe clinique ni radiologique ;

- une métastase hépatique, devant le syndrome douloureux, la bilirubine à 31,5 mg, l'élévation des 5'N, mais il n'y avait pas d'hépatomégalie ;

- une poussée hépatitique chez une malade fatiguée, il existait en effet une légère cytolyse (SGOT : 150 UF, SGPT : 83 UF) en plus du subictère.

Le chiffre de 5'N étant ici nettement supérieur à la moyenne du groupe, il est vraisemblable que le diagnostic doive être reconsidéré.

Notre observation n°59 est celle d'un homme de 30 ans qui présente un syndrome douloureux épigastrique et des troubles dyspeptiques. Le bilan biologique met en évidence une hyperlipémie à 10 g/l et une hypercholestérolémie à 3,82 g/l

5'N	: 37,55 UI/l
PA	: 3,40 UB/100 ml
Bili.	: 8 mg/l.

Le bilan radiologique oriente vers les voies biliaires, la cholecystectomie est pratiquée. La kinésigraphie biliaire montre l'intégrité de la voie

biliaire principale alors qu'elle met en évidence une anomalie que l'on pense être en rapport avec des migrations de débris microlithiasiques de la vésicule vers le cholédoque avec enclavement manqué dans l'Oddi. Macroscopiquement il s'agit d'une cholestérolose vésiculaire avec de nombreux mico-calculs cholestériniques appendus à un pseudo-polype du corps vésiculaire. Il y a quelques débris microlithiasiques dans la vésicule biliaire. L'examen histologique confirme la cholestérolose.

L'intérêt de cette observation réside dans la dissociation entre le taux de 5'N et celui des PA. L'élévation de la 5'N trouvait son explication au niveau de la voie biliaire principale, alors que les chiffres de PA et de bilirubine sont normaux.

4333. Autres affections biliaires

Sept observations regroupent des dyskinésies biliaires, des angiocholites avec ou sans hémoculture positive, des cholécystites aiguës. Les valeurs moyennes sont les suivantes :

5'N : 55,41 UI/l

P A : 7,68 UB/100ml

Résultats des principaux dosages effectués au cours de
diverses affections biliaires

N° des observations	5'N UI/l	P A UB/100ml	Bili mg/l	SGOT URF/ml	SGPT URF/ml
42	8,5	1,8	26	98	56
279	10,5	1,1		23	15
293	8	1,5	4	23	15
346	36,8	10	51,5	198	126
391	77,6	19,6	63	154	113
397	80,5	10,9	3	97	93
398	166	9,1	30	201	192

Les chiffres moyens globaux n'ont guère d'intérêt, les valeurs sont normales dans les dyskinésies alors qu'elles sont parfois fort élevées par ailleurs.

Notre observation n° 398 est celle d'une cholécystite aigüe présentant les valeurs suivantes :

5'N : 166 UI/l
P A : 9,1 UB/100 ml
bili. : 30 mg/l

Une intervention ultérieure devait montrer une "lithiase enclavé du cystique avec phénomène inflammatoire assez sévère sur la voie biliaire principale". Le chiffre de 5'N s'apparente ici à celui des syndromes de rétention.

L'observation n° 397 est également celle d'une cholecystite aigüe mais l'absence de lithiase à la radiographie, l'amélioration sous antibiotique, l'absence d'ictère (bilirubine à 3 mg/l) font sursoir à l'intervention chirurgicale ; en fait en plus des discrets signes de cytolysse et des PA à 10, 90 UB

nous notons des 5'N à 80,50 UI/l, c'est-à-dire un chiffre qui apparente cette observation à celles des rétentions anictériques nécessitant vraisemblablement une exploration plus poussée de la voie biliaire principale.

4334. Affections pancratiques

Résultats des principaux dosages effectués au cours de diverses affections pancréatiques

numéros de l'observation	5'N UI/l	P A UB/100ml	Bili mg/l	SGOT URF /ml	SGPT URF/ml
1	16,9	2,7		40	31
26	17,6	2,2	4	40	19
32	11,5	37	4	17	24
38	30,2	3,5	50	110*	45*
44	40,7	9	15,5	59	44
217	10,5	2,1	6	34	27
269	52,2	39	9	32	31
271	34,2	6,4	6	47	32
309	7,9	1,4	12	17	14
361	17	2,5	4,5	28	18
385	8	4,5			
524	21,6	8,6			
564	147	10,4	10,5	445	285

* résultat exprimé en unité internationale.

Seize dosages lors de 13 affections pancréatiques ont été effectués, ils fournissent les moyennes suivantes :

5'N : 31,96 UI/l

PA : 8,38 UB/100 ml

Ces observations comprennent 4 pseudokystes du pancréas, dont 3 ont des chiffres normaux de 5'N. Le quatrième qui constitue notre observation n° 269 a des valeurs perturbées ;

5'N : 52,20 UI/l

PA : 39, UB/100 ml

Bili : 9 mg/l

L'opacification per-opératoire des voies biliaires devait montrer un "effilement du cholédoque intra-pancréatique".

Parmi les observations d'affections pancréatiques, 9 se rapportent à des pancréatites chroniques calcifiantes ou non. Six sujets ont des valeurs peu modifiées, les trois autres ont les valeurs suivantes de 5'N : 34,2 ; 40,7 ; 147 UI/l.

L'observation n° 271 ayant les valeurs suivantes :

5'N : 34,20 UI/l

PA : 6,40 UB/100 ml

est celle d'un malade présentant une pancréatite chronique calcifiante connue depuis deux ans, se manifestant par un syndrome douloureux abdominal, devant la persistance des douleurs une laparostomie est décidée. L'opacification des voies biliaires pendant l'intervention montre "un cholédoque supra-duodénal légèrement sténosé", auquel nous aimerions pouvoir rattacher sans arrière pensée l'élévation des 5' N. Mais une biopsie hépatique per-opératoire montrait une "cirrhose micro-nodulaire vraisemblablement éthylique" et venait tempérer notre enthousiasme.

Nous allons en effet, maintenant étudier les variations de la 5'N chez un groupe d'éthyliques.

434. Les éthyliques

Notre étude a porté sur 157 éthyliques chez lesquels il a été pratiqué 196 dosages répartis de la façon suivante :

- 30 dosages chez 26 sujets présentant de petits signes d'éthylisme ;
- 25 dosages chez 25 éthyliques présentant des troubles neuro-psychiques ;
- 30 dosages chez 28 éthyliques présentant une hépatomégalie non cirrhotique ;
- 27 dosages chez 21 éthyliques présentant une cirrhose compensée ;
- 84 dosages chez 57 cirrhotiques décompensés.

4341. Petits signes d'éthylisme

Ce groupe de 26 sujets, 20 hommes et 6 femmes, est formé :

- soit de sujets avouant leur intempérance ;
- soit de sujets hospitalisés lors d'une crise d'éthylisme aiguë ou d'une affection intercurrente ;
- soit des sujets venant pour une cure de désintoxication.

Résultats des principaux dosages effectués chez de
petits éthyliques

N° de l'observation	5'N UI/l	P A UB/100ml	Bili mg/l	SGOT URF/ml	SGPT URF/ml
41	12, 8	1, 6	19	48	33
45	10, 5	1, 9	5	24	10
67	27, 3	7	6	31	21
91	14, 3	3	4	22	20
108	11, 7	2, 7	14	67	43
118	15, 4	2, 9	8	19	34
131	20, 6	2, 5	11	63*	36*
153	14, 1	2, 4	3	38	47
161	10, 7	1, 9	16	29	24
163	11, 0	3, 3	13	24	19
172	14, 2	2, 4	2	42	20
180	20, 3	3, 3	6	39	37
199	8, 6	1, 1	12	39	24
204	29, 7	3, 3	4	35	64
211	10	5	15	29	18
212	9	3	18	38	29
216	14, 6	1, 4	16	79	43
236	12, 8	1, 3	9	42	23
247	15, 3	1, 1	6	30	33
301	9, 1	1	12	30	70
311	10, 2	1, 4	4	56	29
330	14	3, 2	6	18	13
349	16, 8	3, 8	2, 5	30	15
377	8	1, 1	6	40	14
375	10, 4	3, 1		26	11
525	9, 8	1, 4		33	36

* résultat exprimé en unité internationale

Ils présentent tous de petits signes d'imprégnation éthylique (logorrhée, tremblement des extrémités, cauchemar), pour ce groupe les chiffres moyens sont les suivants :

- 5'N : 14,16 UI/l

PA : 2,5 UB/100 ml

Les 5'N sont supérieures à 16,5 UI/l dans 23 % des cas, les PA sont supérieures à 4,2 UB/100 ml chez 7,6% des sujets éthyliques.

4343. Ethyliques avec troubles neuro-psychiques

Un groupe de 25 éthyliques présentent des troubles neuro-psychiques tels que : tentative d'autolyse, délirium trémens, polynévrite. Pour ces sujets les valeurs moyennes sont les suivantes :

- 5'N : 13,85 UI/l

- PA : 2,8 UB/100 ml

les 5'N s'élèvent à plus de 16,5 UI/l dans 32 % des cas et les PA sont supérieures à 4,2 UB/100 ml dans 12 %.

On voit que si la valeur moyenne n'est guère différente entre les groupes d'éthyliques avec ou sans trouble neuro-psychique, il existe toutefois une grande dispersion des valeurs dans le groupe présentant des troubles neurologiques.

L'observation 117 présente le chiffre le plus élevé de 5'N du groupe à savoir 29,6 UI/l, il s'agit là d'une tentative de pendaison chez un éthylique ; on note de plus chez ce sujet la présence de barbituriques dans les urines qui pose le problème de l'action de certaines drogues sur le métabolisme hépatique et singulièrement de leurs actions sur le taux sérique de la 5'N.

Résultats des principaux dosages effectués chez des éthyliques
présentant des troubles neuro-psychiques.

Numéros de l'observation	5'N UI/l	PA UB/100ml	Bili mg/l	SGOT URF/ml	SGPT URF/ml
51	10,6	2,2	10	40	37
69	21,7	2,2	14	57	21
77	11,0	2	13	32*	23*
105	28,6	3,3	12	141	91
113	10,4	2	4	219	80
117	29,6	2,2	14	49	40
119	17,6	8,4	18	58*	37*
130	8,8	2,3	6	40	32
164	12,8	2,2	12	29	21
194	17,9	2,2	23	57	40
222	9,4	0,9	12	55	26
232	20,6	7,9	4	37	18
234	9,2	3,3	12	42	16
300	20,2	1,4	18	72	43
321	11,3	2,1		36	25
344	9,5	1,4	2	34	27
345	14,4	1,5		68	40
370	10	1,5		35	15
372	12,3	5,8	8	64	51
374	8,3	1,5	9,5	35	23
376	15,4	3,8		56	42
379	18,4	3,2	4,4	36	53
380	4,7	4,1	8	34	20
381	8,3	2,9	8	34	21
522	14,5	2,2		86	44

* Valeur exprimée en unité internationale.

4343. Hépatomégalies éthyliques

Les 28 malades étiquetés "hépatomégalies éthyliques" sont des éthyliques avec ou sans troubles neuro-psychiques, mais ayant en plus une hépatomégalie.

Sur le plan fonctionnel hépatique, la clearance de la BSP montre une rétention du colorant dans le secteur vasculaire. La laparoscopie peut ne pas fournir les résultats escomptés et peut faire suspecter à tort une cirrhose, par contre la ponction biopsie hépatique permet à l'histologiste de voir :

- une stéatose importante, pouvant aller jusqu'au 80 % mais restant le plus souvent de l'ordre de 40 % des hépatocytes ;
- parfois une discrète fibrose périportale ;
- mais il n'y a jamais de sclérose mutilante.

Dans ce groupe d'hépatomégalies éthyliques les chiffres moyens sont les suivants :

- 5'N : 18,78 UI/l
- PA : 4,23 UB/100 ml

et les 5'N élevées à plus de 16,50 UI/l représentent 43 % des cas, alors que les PA sont élevées à plus de 4,2 UB/100 ml dans 35 % des observations.

Résultats des principaux dosages effectués chez des éthyliques
présentant une hépatomégalie non
cirrhotique.

Numéros de l'observation	5'N UI/l	PA UB/100ml	Bili mg/l	SGOT URF/ml	SGPT URF/ml
20	11	1,9	12	108	30
23	8,6	2,2	9	43	17
57	49,1	13	10	99	55
63	14,2	2,4	11	47	13
65	22	1,9	11	81	44
66	9,5	1,8	8	22	20
100	27,3	4,2	18	107	44
101	9,8	3,8	6	26	20
110	19,1	4,8	23	93	137
115	13,1	2,1	21	41	34
128	16,2	2,4	12	65*	48*
133	46,5	8,6	27	55*	31*
151	14,9	2,2	5,5	38	20
168	8,4	4,5	33	59	40
176	20,7	2,4	14	67	77
188	45,1	8,6	11	80*	18*
206	24	4,3	8	103	71
207	18	3,7	11	45	28
208	9,5	2,5	12	30	35
219	26	3,1	8	55	25
220	9	1,3	15	83	38
224	13,1	6,6	16	111	50
304	29	7,5	21	64	22
319	7,4	1,9	19	40	15
356	11,5	7,6	4	25	23
358	9	3,3	10,5	33	20
371	27,5	7,8	12	53	31
557	10,2	2,1	7,5	32	30

* résultat exprimé en unité internationale.

4344. Les cirrhoses

Pour l'ensemble de nos 83 cirrhoses nous trouvons pour la 5'N:

moyenne ° : 34,76 UI/l

variance : 1170,94

écart-type : 34,21

et pour les P. A. :

moyenne : 10,01 UB/100 ml

variance : 124,88

écart-type : 11,17

Il n'existe entre les 5'N et les P. A. une bonne corrélation puisque le coefficient de corrélation observé est :

r : 0,885.

Résultats des principaux dosages effectués au cours
de 83 cirrhoses

Numéro de l'observation	5'N UI/l	PA UB/100ml	Bili mg/l	SGOT URF/ml	SGPT URF/ml
16	20,7	2,3	6	35	31
21	8,1	3,7	80	159	41
27	60,3	13,4	12	92	47
40	25,4	3,3	11	50*	46*
46	55,3	9,2	17	54	44
48	13,9	3,1	75	45	30
52	94,0	24	34	138	109
54	34,4	10,8	136	105	33
73	132,4	57,6	26	66	91
76	39,7	16,3	23	62*	34*
80	19,7	3,2	56	74	18
81	26,2	6,4	12	59	20
82	14,5	6,5	89	90	32
87	25,4	6,5	43	47	10
98	18,4	3,4	28	57	42
103	18,4	2,4	21	34	22
106	82,2	24,3	300	180	78
111	15,6	9	37	68	36
123	10,8	6,2	7	30*	26*
124	19,7	3,4	42	48*	30*
125	16,9	6,6	4	65*	46*
127	64,4	18,6	125	66*	45*
129	11,2	2,1	22	93*	32*
135	8,3	2	78	148	52
137	21,8	3,9	27	41	23
138	26,7	8,8	84	90	26
171	34,3	8,5	43	22	12

187	49	11, 6	17	150*	105*
192	13, 1	4, 4	18	56*	35*
193	13, 7	2, 3	34	47	27
197	30, 8	9, 3	23	157	131
198	77, 6	14, 4	14	55	30
201	27, 5	3, 9	19	47	34
203	20, 3	4, 8	38	900	370
209	11, 5	6, 9	23	60	24
214	56, 2	20	21, 5	141	45
215	15, 6	3, 5		50	24
223	19, 7	8, 8	14	67	46
233	19, 9	6	52	98	32
237	41, 7	14	22	27*	17*
238	20, 9	6, 2	121	87	60
240	16, 1	4	408	156	93
248	50, 8	3, 8	12	145	42
252	40	12, 8	38	130	38
253	12, 5	3, 1	13	21	16
254	42, 3	8, 2	39	98	27
255	36, 9	3, 8	19	44	28
257	58, 9	13, 3	22	138	38
267	29, 9	8, 8	25	57	22
274	17, 0	4, 8	73	154	48
280	38, 9	7	12	40	15
284	22	9, 5	51	136	45
285	29, 5	5, 7	62	93	27
286	26, 0	6, 3	12	90	42
297	12, 2	3, 2	12	20	15
298	24, 6	5, 1	23	143	45
302	16, 7	6, 6	30	47	18

305	30	4, 3	26	50	30
308	16, 5	4, 9	43, 5	117	24
323	17, 6	7, 5	10	48	28
328	21, 0	6, 9	31, 5	60	29
332	56, 2	19, 8	5, 5	34	34
334	12, 5	1, 4	5, 5	23	38
335	43, 3	20	31		
341	35	11, 4	34, 5	180	
347	243	74, 5	75	162	88
351	15, 5	3, 1	6	34	26
354	36, 5	12, 4	65	93	39
355	13, 1	10, 2			
362	23, 2	10			
366	17, 0	9, 2	23	55	37
367	24	25	9, 5	52	28
378	13, 6	4, 8			
387	10, 5	3, 2			
509	13, 4	8, 8	17	780	940
512	16, 3	3, 8			
515	101	17, 6	7	177	79
527	40	23, 8	69	98	37
543	112	39, 3	19, 5	46	52
548	102	10, 6	26	41	34
553	28, 5	5	9, 5	41	23
558	23	4, 6	62	62	26
559	12	2, 2	4, 5	102	97

* valeur exprimée en unité internationale.

Le diagnostic de cirrhose est un diagnostic anatomique suspecté lors de la laparoscopie, il est confirmé par la PBF : c'est la présence d'une sclérose mutilant le parenchyme hépatique. Dans la cirrhose éthylique la stéatose accompagne souvent la sclérose.

Cette image histologique peut exister en dehors de toute manifestation clinique ou pour des manifestations non liées à l'état hépatique, nous parlons alors de cirrhoses compensées et nous les opposons aux cirrhoses décompensées qui sont hospitalisées à l'occasion, le plus souvent d'une décompensation ictéro-ascitique, mais aussi d'une complication hémorragique, ictérique simple ou au contraire d'un coma hépatique.

Notre groupe comprend 111 dosages effectués chez 78 cirrhotiques éthyliques ; les moyennes de ces observations sont les suivantes :

- 5'N : 31,16 IU/l }
PA : 8,90 UB/100 ml

Les 5'N sont augmentées au-dessus de 16,5 UI/l dans 71 % des cas et au dessus du double de la valeur prise comme limite supérieure dans 30 % des cas.

Vingt et une cirrhoses compensées fournissent les moyennes suivantes :

- 5'N : 31,22 UI/l
PA : 7,02 UB/100 ml

et 57 cirrhoses décompensées :

- 5'N : 31,10 UI/l
PA : 9,58 UB/100 ml

il semble donc que la notion clinique de décompensation cirrhotique n'apporte pas de différenciation valable au sein du groupe de cirrhotiques : nous avons donc tenté d'aborder le problème en prenant comme critère de la différenciation le taux de bilirubine :

Quarante sept observations ont une bilirubine supérieure à 20 mg/l, moyennes :

- 5'N : 32,77 UI/l

PA : 9,84 UB/100 ml

Trente et une observations ont une bilirubine inférieure à 20 mg/l,
moyennes :

- 5'N : 28,79 UI/l

PA : 7,48 UB/100 ml

Cette approche ne semble pas satisfaisante, aucune corrélation
n'existe entre bilirubine et 5'N : notre observation n° 240, d'une cirrhose en
coma hépatique, est la caricature de ce fait :

- 5'N : 16,1 UI/l

PA : 4 UB/100 ml

bilirubine : 408 mg/l.

L'étude séparée des décompensations ictéro-ascitiques ne donne pas
de résultats plus intéressants.

Certaines cirrhoses avec taux de 5'N assez élevé soulèvent quelques
problèmes. Notre observation n° 548 est celle d'une cirrhose décompensée où
l'on trouve les valeurs suivantes à 4 dosages successifs répartis sur un mois :

5'N (UI/l)	102	74	114,3	146,8
PA (UB/100ml)	10	10,80	21	14,7
Bili. (mg/l)	26	13	13	16

De telles valeurs de la 5'N doivent faire rechercher en plus de la cir-
rhose, et comme nous l'avons vu plus haut :

- une rétention biliaire anictérique ;

ou comme nous aurons l'occasion d'y revenir :

- un cancer du foie, dont on connaît l'extrême fréquence quand on pra-
tique la vérification nécropsique systématique des cirrhotiques.

A côté de ce grand nombre de cirrhoses éthyliques nous avons 5 cirrhoses d'autres origines :

Deux cirrhoses post-hépatitiques avec les résultats suivants :

observation n° 257 : - 5'N : 59,90 UI/l
 - PA : 13,20 UB/100 ml

observation n°347 : - 5'N : 243 UI/l
 - PA : 74,5 UB/100 ml

La réascension des 5'N dans les suites d'une hépatites virale est pour nous un signe de passage à la chronicité et surtout un signe d'accompagnement de l'agressivité, nous voyons là que c'est également un signe d'évolution cirrhogène.

Une cirrhose biliaire primitive constitue notre observation n° 296. C'est une cirrhose anictérique correspondant histologiquement à la maladie de Hanot et Kiener, les chiffres sont normaux :

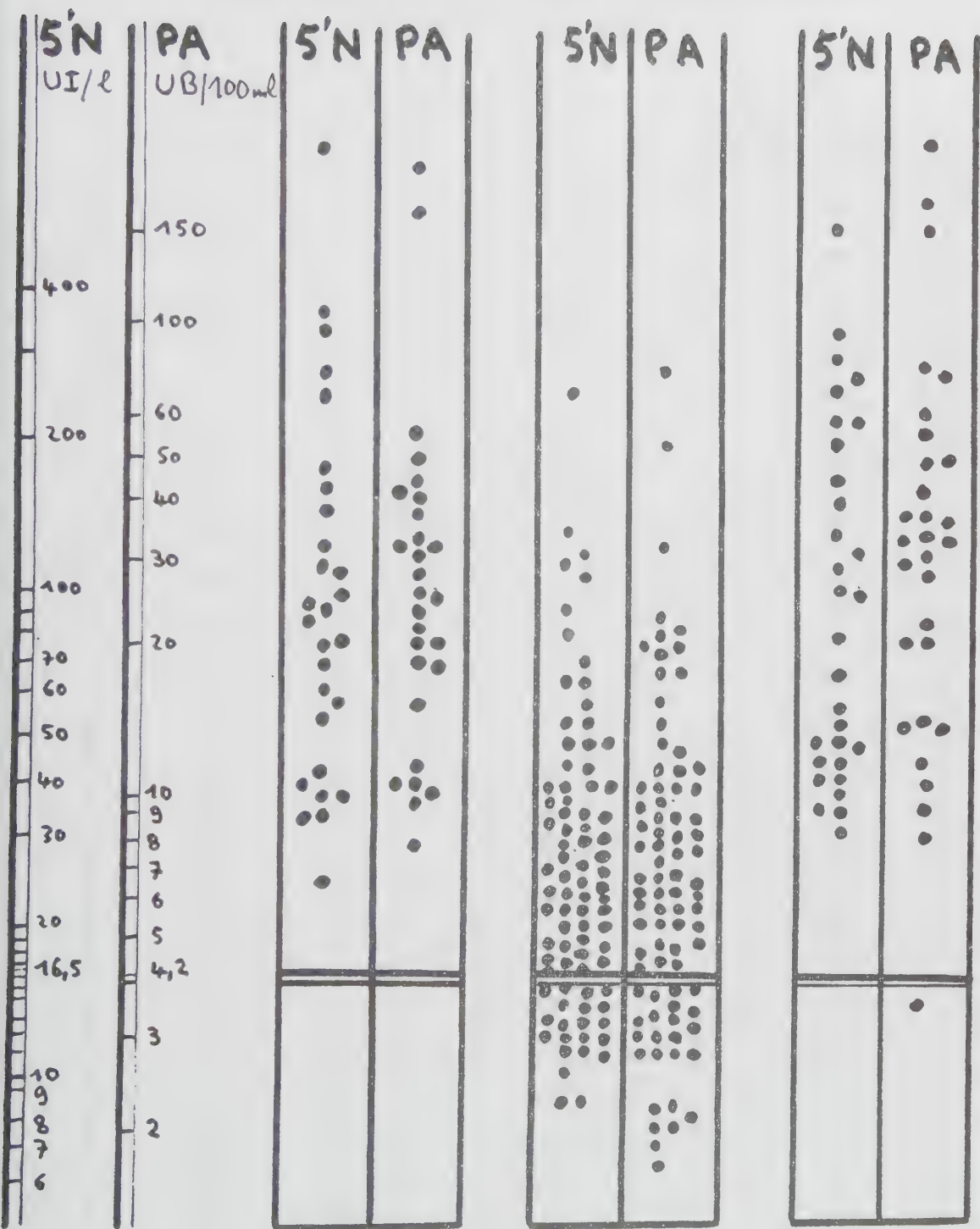
- 5'N : 12,20 UI/l
- PA : 3,20 UB/100 ml
- bili : 12 mg/l.

Un syndrome de Budd-Chiari présente les valeurs suivantes :

- 5'N : 38,90 UI/l
- PA : 7,00 UB/100 ml

une malade de Banki :

- 5'N : 112,40 UI/l
- PA : 39,30 UB/100 ml



RÉTENTION BILIAIRE

CIRRHOSE

CANCER DU FOIE

TAUX DES 5'N et DES PA AU COURS de DIVERSES
AFFECTIONS HÉPATO-BILIAIRES

435. Affections digestivesRésultats des principaux dosages effectués au cours de
47 affections digestives

numéro de l'observation	5'N UI/l	PA UB/100ml	Bili mg/l	SGOT URF/ml	SGPT URF/ml
6	23	5, 6	16	27	22
18	18, 1	2, 1	4	15	7
19	12, 4	3, 5	10	27	16
34	8, 1	1, 6	14	29	28
36	10, 6	2, 2	7	23	13
62	10, 7	2, 7	14	21	22
64	9, 3	2, 3	10	21	19
85	8, 9	2, 4	10	17	16
96	19	4, 7	10	53	91
102	25, 7	2, 2	5	53	36
112	13, 7	1, 9	9	32	24
116	9, 5	2, 5	6	12	37
140	9, 9	2, 3	4	6 *	11 *
155	16, 5	5	5, 5	24	18
157	7	1, 7	4	12	28
160	7, 8	2	12	22	13
162	11, 7	1, 7	19	38	31
169	14, 2	6	17	34	27
174	7, 3	1, 4	14	18	17
210	13	1, 5	15	25	19
218	10, 5	4, 7	5	20	16
226	11, 5	2, 2	10	22	21
228	13, 8	2, 1	8	25	22

229	16,8	1,3	14	40	48
239	8,2	1,8	3	12	9
242	16,5	6,3	9	49	54
243	9,7	1,4	7	17	15
244	13,7	4,7	3	24	17
249	16,6	3,1	41	36	20
264	2,4	0,8	6	21	17
310	11	3,3	4	13	15
312	9,5	1,7	5	20	16
313	12,1	6,9	6	39	27
326	19,6	7,1			
333	8,2	4,3	5	27	18
350	9,2	1,5	9	34	18
353	12,5	2,2	8	24	22
365	3,3	3	6	23	15
368	18,3	3,9	6	35	25
373	13,1	2,7			
382	10,7	3,6	7	35	24
383	12	3,2	5	27	19
384	15,9	3,5	8	30	21
386	10	3,3	9	22	15
390	8	1,8	2	14	19
518	11,4	1,1			
523	12,2	4,2			

* Résultats exprimés en unités internationales.

Pour ces 47 observations d'affections digestives, les valeurs moyennes sont les suivantes :

- 5'N : 12,18 UI/l

- PA : 3,00 UB/100 ml

Ces affections digestives se répartissent comme suit :

- 10 gastrites prouvées radiologiquement et surtout le plus souvent par la vision directe fibroscopique, à la suite d'un syndrome douloureux ou hémorragique médicamenteux ;
- 9 ulcères gastro-duodénaux prouvés par la radiographie. Certains présentent à l'entrée une hématémèse ;
- 8 dossiers d'affection gastro-duodénales diverses :
hernie hiatale, syndromes douloureux ou hémorragiques sans preuve radiologique ;
- 5 affections du grêle comprenant entre autre :
 - . un iléite de Crohn
 - . deux maladies de Whipple prouvée histologiquement et ayant la particularité de survenir chez des malades habitant le même village ;
- 15 colopathies diverses.

Le détail de ces différents groupes est dénué d'intérêt, car les valeurs moyennes sont normales. Lorsqu'un sujet pris isolément présente un taux de 5'N un peu élevé, il semble dans un certain nombre de cas qu'un éthylisme mineur surajouté ne puisse être éliminé.

436. Affections néoplasiques

Notre étude a porté sur 63 dossiers d'affections néoplasiques comprenant 81 dosages.

4361. Cancers divers

Un petit groupe de 11 observations intéresse des cancers non osseux non hépatique et sans métastase. Les valeurs moyennes sont les suivantes :

5'N : 16,72 UI/l

PA : 4,54 UB/100 ml

En fait, une étude plus attentive des observations, présentant les chiffres les plus élevés de 5'N, montre quelques ambiguïtés diagnostiques.

L'observation n° 70, 5'N = 22,70 IU/l, est celle d'un épithélioma épidermoïde prouvé par une biopsie vaginale, de point de départ inconnu et s'accompagnant d'une ascite et d'une hépatomégalie : l'atteinte métastatique du foie serait donc à envisager.

L'observation n° 37, 5'N = 23,10 UI/l est celle d'un épithélioma prostatique, apparemment sans métastase mais présentant une hépatomégalie dont le bilan biologique est le suivant :

bilirubine : 24 mg/l

SGOT : 96 UF/ml

SGPT : 91 UF/ml

Ne s'agit-il pas là d'une hépatite ? Signalons également chez ce malade une urée supérieure à 2 g/l.

L'observation n° 24, 5'N = 25,54 UI/l est celle d'un adénocarcinome gastrique opéré 2 ans auparavant et présentant une tumeur paramédiane droite, métastatique à la ponction biopsie, mais pour laquelle la scintigraphie hépatique

n'apporte pas d'éléments convainquant ; le bilan biologique hépatique est normal : là encore, se pose la question de savoir s'il s'agit d'une métastase hépatique.

L'observation n°275, 5'N = 19,95 UI/l est celle d'un adénocarcinome Lieberkühnien rectal présentant une septicémie à *Protéus* responsable d'une hépatonéphrite :

Bilirubine	: 118 mg/l
SGOT	: 137 UF/ml
SGPT	: 44 UF/ml
K +	: 7,8 mEq/l
urée	: 1,50 g/l.

Il semble donc que pour un certain nombre des observations classées dans ce groupe de néoplasies sans métastase, un autre diagnostic puisse être envisagé.

4362. Métastases osseuses

Un groupe de 17 malades présentant un cancer connu et des métastases osseuses :

- soit suspectées sur le syndrome clinique et mis en évidence par la radiographie ;
- soit affirmées par ponction-biopsie osseuse voir même par simple ponction sternale.

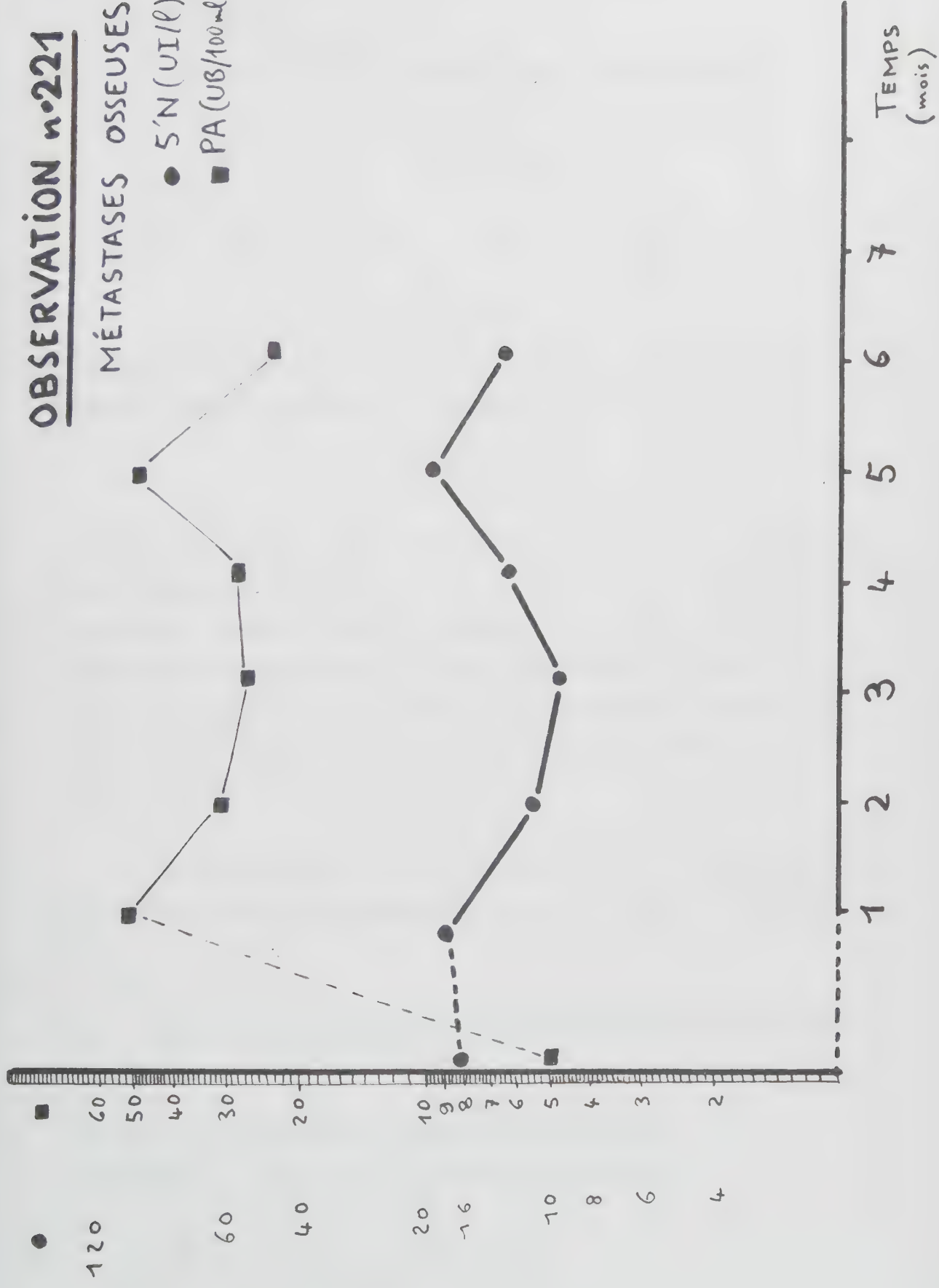
Les moyennes de ce groupe sont les suivantes :

- 5'N : 17,55 UI/l
- PA : 19,05 UB/100 ml

OBSERVATION n°221

MÉTASTASES OSSEUSES

- 5'N (UI/l)
- PA (UB/100ml)



30 % des cas ont une PA normale et les moyennes suivantes :

- 5'N : 15,2 UI/l
- PA : 2,84 UB/100 ml

Les 70 % restant ont pour moyennes :

- 5'N : 18,52 UI/l
- PA : 25,70 UB/100 ml

cette valeur supérieure à la normale de la 5'N peut faire suspecter une localisation hépatique associées comme dans cette observation n° 121 :

- PA : 38,1 UB/100 ml
- 5'N : 43,50 UI/l.

qui est celle d'un cancer utérin avec métastase rachidienne, où un éthy-
lisme surajouté vient compliquer le diagnostic. L'augmentation de la 5'N,
quand elle est modérée, peut être en rapport avec une forte activité ostéo-
blastique et notre observation 221 semble démonstrative à cet égard. Il
s'agit d'un malade présentant un cancer de la prostate avec métastases os-
seuses. La surveillance au cours de 5 mois d'évolution permet les consta-
tations suivantes :

La courbe de la 5'N, tout en restant dans les limites physiologiques,
n'en suit pas moins d'une manière générale les inflexions de la courbe des
PA.

Les valeurs correspondant à la courbe de la page précédente sont
les suivantes :

- PA (UB/100 ml) : 52,5 - 32,1 - 30,6 - 31,2 - 52,2 - 25,8
- 5'N (UI/l) : 17,5 - 11,5 - 9,6 - 15,6 - 18,8 - 13,6.

4363. Cancers du foie

Tableau des résultats obtenus chez 30 sujets atteints de
cancer du foie

numéro de l'observation	5'N IU/l	P A UB/100ml	Bili mlg/l	SGOT URF/ml	SGPT URF/ml
4	1 6 9	39, 5	65	333	108
29	51, 6	60, 5	21	213	122
56	46	13, 9	5, 5	84	70
71	261	37, 4	30	195	69
107	533	232	164	168	88
136	53	8, 6	34, 5	69	41
144°	132, 3	43, 8	16	98	46
184	50, 7	30	6	60*	23*
186	39, 8	15, 6	8	45*	38*
200	278	78	74	160	52
205	27, 1	33, 3	8	46	31
256	44, 1	9, 2	16	34	16
265	148, 4	27	16	97	83
283	79, 3	29, 7	21	95	36
294	32, 3	3, 9	3	40	28
297	232, 5	214	152	600	320
299	48	37, 6	281	107	76
307	200	50, 4	54	77	56
314	115, 2	31, 2	16	87	83
315	206	33, 6	6	133	261
329	275, 5	49	23	69	64
395	32	16, 8	67, 5	90	42
508	38, 7	16, 6	37	33	18
521	51, 6	19, 2			
530	129	71	5	111	83

544	393,5	53,5	55	111	89
550	33,7	8,5	8	58	90
561	108	34,2	7	56	37
563	101	33	6	35	27
566	45,6	202	18	84	52

* valeur exprimée en unités internationales.

Notre étude a porté sur 30 cancers hépatiques dont le diagnostic a été établi par des données :

- . cliniques
- . scintigraphiques et artériographiques ;
- . laparoscopiques ;
- . biopsiques ;

les moyennes sont les suivantes :

- 5'N : 131,87 UI/l
- PA : 42,76 UB/100 ml

Le coefficient de corrélation observé entre les 5'N et les PA est :

r : 0,712

Les cancers primitifs au nombre de 9 fournissent les moyennes ci-après :

- 5'N : 166,63 UI/l
- PA : 44,94 UB/100 ml

et les 21 cancers secondaires ont pour moyenne :

- 5'N : 116,97 UI/l
- PA : 41,83 UB/100 ml

Les valeurs plus élevées pour les cancers primitifs sont peut-être en rapport avec le fait qu'ils surviennent sur un foie déjà lésé : 44 % en effet se développent sur un foie cirrhotique.

Il faut remarquer cependant qu'une cirrhose s'accompagnant d' α_1 foeto-protéine ne semble pas synonyme de cancer associé. Notre observation 284 est celle d'une cirrhose éthylique avec présence de la protéine foetale. Le chiffre de 5'N était normal et l'amélioration clinique progressive, sans qu'aucun cancer ne soit mis en évidence.

Cette classification en cancer primitif et secondaire ne nous montrant guère de différence des valeurs de la 5'N, nous les avons donc classés selon l'existence ou non d'ictère :

- 14 malades ont un ictère : moyennes :

5'N : 188,95 UI/l
PA : 65,97 UB/100ml
Bili : 77,07 mg/l

- 16 sujets sont anictériques : moyennes :

5'N : 81,92 UI/l
PA : 38,06 UB/100 ml
Bili : 9,03 mg/l

La différence entre les deux groupes est ici beaucoup plus significative.

4364. Métastases osseuses et hépatiques

Dans ce groupe de 5 malades, les métastases osseuses sont prouvées mais la localisation hépatique n'est que suspectée, parfois sur l'examen clinique, toujours sur un bilan biologique perturbé.

Les moyennes sont :

5'N : 61,58 UI/l
PA : 41,96 UB/100 ml

437. Les affections osseuses

Les malades présentant une affection osseuse sont au nombre de 71. La valeur moyenne des 5'N est normale, celle des PA varie avec le groupe pathologique.

4371. Les ostéoporoses

Un groupe de 12 malades hospitalisés pour des raisons diverses, présentent en commun, lors de l'examen des clichés osseux, des signes d'ostéoporoses.

Pour ce groupe les chiffres moyens sont les suivants :

5'N : 12,64 IU/l

PA : 6,09 UB/100 ml

Trois dossiers soit 25 % présentant un chiffre de PA supérieur à 5 UB, dont un avec 5'N modérément élevée.

L'observation 388 est celle d'un malade présentant des phlébites à répétition restées sans étiologie. Les PA sont à 10,7 UB, les 5'N normales. Des métastases osseuses sont évoquées sans être prouvées.

L'observation 514, PA : 16,8 ; 5'N : 10,32 UI/l est celle d'un malade présentant en plus de son ostéoporose, une tachyarythmie digitalisée.

L'observation 507, présente une ischémie myocardique en plus de son ostéoporose :

5'N : 17,7 IU/l puis quelques temps après 13 UI/l

PA : 24 UB/100 ml, puis quelques temps après 22 UB.

Il n'y a pas de foie cardiaque, mais l'électrophorèse montre une tendance au bloc $\beta\gamma$.

4372. Hypovitaminose D

Ce groupe de 26 malades a pour moyenne :

5'N : 12,40 IU/l

PA : 40,73 UB/100 ml.

Il comprend une ostéomalacie

5'N : 7 UI/l

PA : 17,5 UB/100 ml

et 25 rachitiques, tous ont des PA à plus de 10 UB. 4 présentent des 5'N un peu élevées : 18,4; 18,7 ; 19 ; 20,8 UI/l, mais il n'y a pas eu de bilan hépatique réalisé. Nous remarquons toutefois que ces élévations modérées de la 5'N ne correspondent pas aux taux de PA les plus élevées.

Observation 418	PA : 124 UB	5'N : 9,19 UI/l
474	PA : 105 UB	5'N : 12,90 UI/l
467	PA : 176 UB	5'N : 10,90 UI/l.

4373. Maladie de Paget

Un groupe de 18 maladies osseuses de Paget a pour moyenne :

5'N : 11,83 IU/l

PA : 57,18 UB/100 ml

Le taux des PA ne semble ici en aucune manière influencer celui des 5'N, et le coefficient de corrélation observé entre les 5'N et les PA est :

r : 0,096

montrant l'absence de corrélation entre les deux données.

Notre observation 352 présente la particularité d'associer 1 maladie de Paget prouvée radiologiquement, et 1 maladie de Kahler prouvée par l'immunochimie et la plamocytose médullaire :

5'N : 13,6 UI/l

PA : 14,6 UB/100 ml

4374. Affections osseuses diverses

Un groupe de 15 malades présentant 1 affection osseuse non précédemment étudiée, se caractérise par les moyennes suivantes :

5'N : 11,83 UI/l

PA : 10,10 UB/100 ml

Quelques-unes ont des valeurs normales tant pour les PA que pour les 5'N:

- Certaines affections traumatiques ;
- les spondylarthrites ankylosantes ;
- les troubles ostéo-articulaires de l'hypothyroïdie ;
- les gouttes chroniques.

Parmi les polyarthrites rhumatoïdes, 2 ont des valeurs normales alors qu'une troisième l'observation n° 261 est celle d'une polyarthrite séro-positive ayant les chiffres suivants :

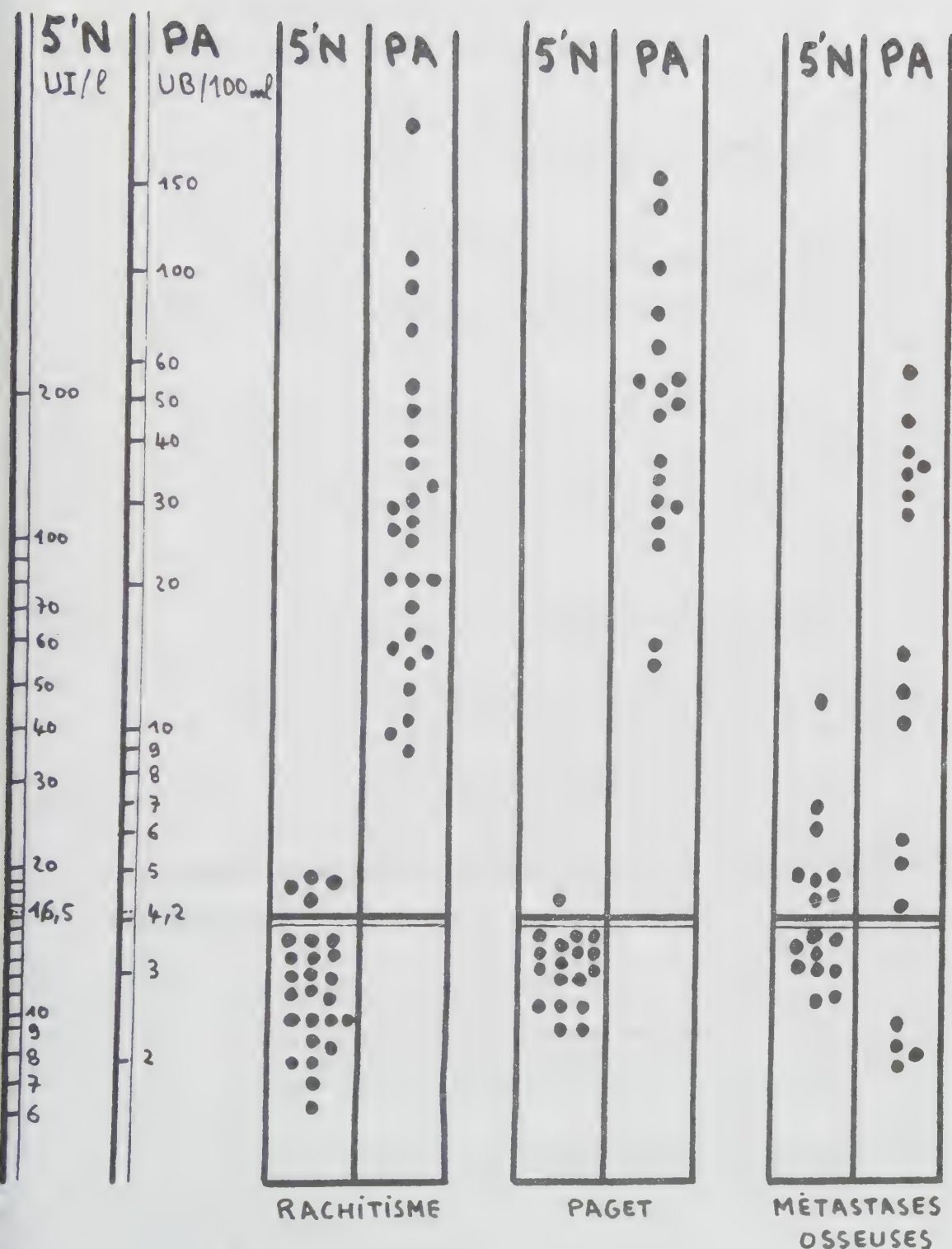
5'N : 18,35 UI/l

PA : 3,1 UB/100 ml.

le bilan hépato-biliaire est normal.

Quelques ostéopathies présentent des 5'N normales avec des PA élevées :

- Certaines fractures ;
- les dysplasies fibreuses ;
- les rhumatismes chroniques sous corticothérapie.



TAUX DES 5'N et DES PA AU COURS de DIVERSES
AFFECTIONS OSSEUSES

438. Miscellanées

Un groupe de 64 dossiers comprenant des affections diverses, nous fournissent les chiffres moyens suivants :

5'N : 15,60 IU/l

PA : 3,90 UB/100 ml

Un examen plus attentif de ces dossiers permet de se rendre compte que l'on peut les classer de la façon suivante :

- 42 observations ont une valeur de 5'N normale ;
- 10 observations ont une élévation à la fois des PA et des 5'N ;
- 12 observations ont une élévation isolée des 5'N.

4381. Affections diverses avec la 5'N normale

Ce groupe de 42 observations montrent les moyennes suivantes :

5'N : 11,42 UI/l

PA : 3,00 UB/100 ml

On y trouve une grande diversité de diagnostics, mais en majorité des affections cardio-vasculaires :

- Hypertension artérielle ;
- foie cardiaque et insuffisance cardiaque ;
- accident vasculaire cérébral.

Dans ce groupe, 4 sujets ont des PA un peu élevées.

Les observations :

- 167 : hémiplegie PA : 7 UB ; 5 'N : 8,77 UI/l
- 241 : dermatose infectieuse PA : 7,3 UB ; 5'N : 12,42 UI/l
- 291 : dystonie neurovégétative PA : 7,9 UB ; 5'N : 14,90 UI/l
- 393 : hernie inguinale PA : 9 UB ; 5'N : 13,30 UI/l

Les malades sont âgés respectivement de 77, 75, 78 et 87 ans ; il semble que ce soit là le trait d'union de ces observations et que vraisemblablement des remaniements osseux plus ou moins bien systématisés peuvent être à l'origine de cette élévation isolée et d'ailleurs modérée des PA.

4382. Affections diverses présentant une élévation simultanée
des PA et de la 5'N

Dix observations présentent une augmentation simultanée des PA et des 5'N, valeurs moyennes :

5'N : 27,34 UI/l

PA : 9,08 UB/100 ml

L'observation n° 534 est celle d'un accident de la voie publique qui présentait une septicémie, les chiffres suivants :

5'N : 28, UI/l

PA : 11 UB/100 ml

Bili : 33 mg/l

et devait mourir 15 jours après dans un tableau de coma hépatique.

L'observation 513 est celle d'une leucémie myéloïde chronique à la phase terminale, la splénomégalie est énorme et il existe vraisemblablement des troubles de l'hémodynamique hépatique, voir une infiltration leucosique du foie. Il faut remarquer en plus que cette malade poursuivait une chimiothérapie depuis 2 ans.

Les observations n° 139, 528, 556 et 560 présentent en commun

- 167 : hémiplégie	PA : 7 UB ; 5 'N : 8,77 UI/l
- 241 : dermatose infectieuse	PA : 7,3 UB ; 5'N : 12,42 UI/l
- 291 : dystonie neurovégétative	PA : 7,9 UB ; 5'N : 14,90 UI/l
- 393 : hernie inguinale	PA : 9 UB ; 5'N : 13,30 UI/l

Les malades sont âgés respectivement de 77, 75, 78 et 87 ans ; il semble que ce soit là le trait d'union de ces observations et que vraisemblablement des remaniements osseux plus ou moins bien systématisés peuvent être à l'origine de cette élévation isolée et d'ailleurs modérée des PA.

4382. Affections diverses présentant une élévation simultanée des PA et de la 5'N

Dix observations présentent une augmentation simultanée des PA et des 5'N, valeurs moyennes :

5'N : 27,34 UI/l

PA : 9,08 UB/100 ml

L'observation n° 534 est celle d'un accident de la voie publique qui présentait une septicémie, les chiffres suivants :

5'N : 28, UI/l

PA : 11 UB/100 ml

Bili : 33 mg/l

et devait mourir 15 jours après dans un tableau de coma hépatique.

L'observation 513 est celle d'une leucémie myéloïde chronique à la phase terminale, la splénomégalie est énorme et il existe vraisemblablement des troubles de l'hémodynamique hépatique, voir une infiltration leucosique du foie. Il faut remarquer en plus que cette malade poursuivait une chimiothérapie depuis 2 ans.

Les observations n° 139, 528, 556 et 560 présentent en commun

une urée sanguine élevée. Elle est respectivement à 2,50 ; 5,00 ; 2,00 et 1,10 g/l, les deux premières observations étaient celles de malades présentant par ailleurs une importante déshydratation. La seule élévation de l'urée ne semble pas expliquer l'élévation de la 5'N, en effet l'observation n° 245 est celle d'une urémie terminale avec 5'N = 12 UI/l. Rappelons que Moretti (122) croit à la synthèse rénale de la 5'N.

Avant de tirer une conclusion hâtive d'une élévation simultanée des PA et des 5'N, il faut essayer de la replacer dans le contexte d'une affection hépato-biliaire, voire d'un simple éthylisme.

4383. Affections diverses avec élévation isolée des 5'N

Ce groupe de 12 dossiers présente les moyennes suivantes :

5'N : 20,45 UI/l

PA : 3,16 UB/100 ml

Dans un certain nombre des cas, si le diagnostic ne permet pas de classer l'observation dans un cadre précédemment étudié, il n'en existe pas moins des anomalies du bilan hépatique :

- Observation 154, athérosclérose et problème social ;

. 5'N : 18,62 UI/l mais aussi SGOT : 102 UF/ml

SGPT : 80 UF/ml

- observation 60, hémiplegie

. 5'N : 17,75 UI/l mais aussi bilirubine à 19 mg/l

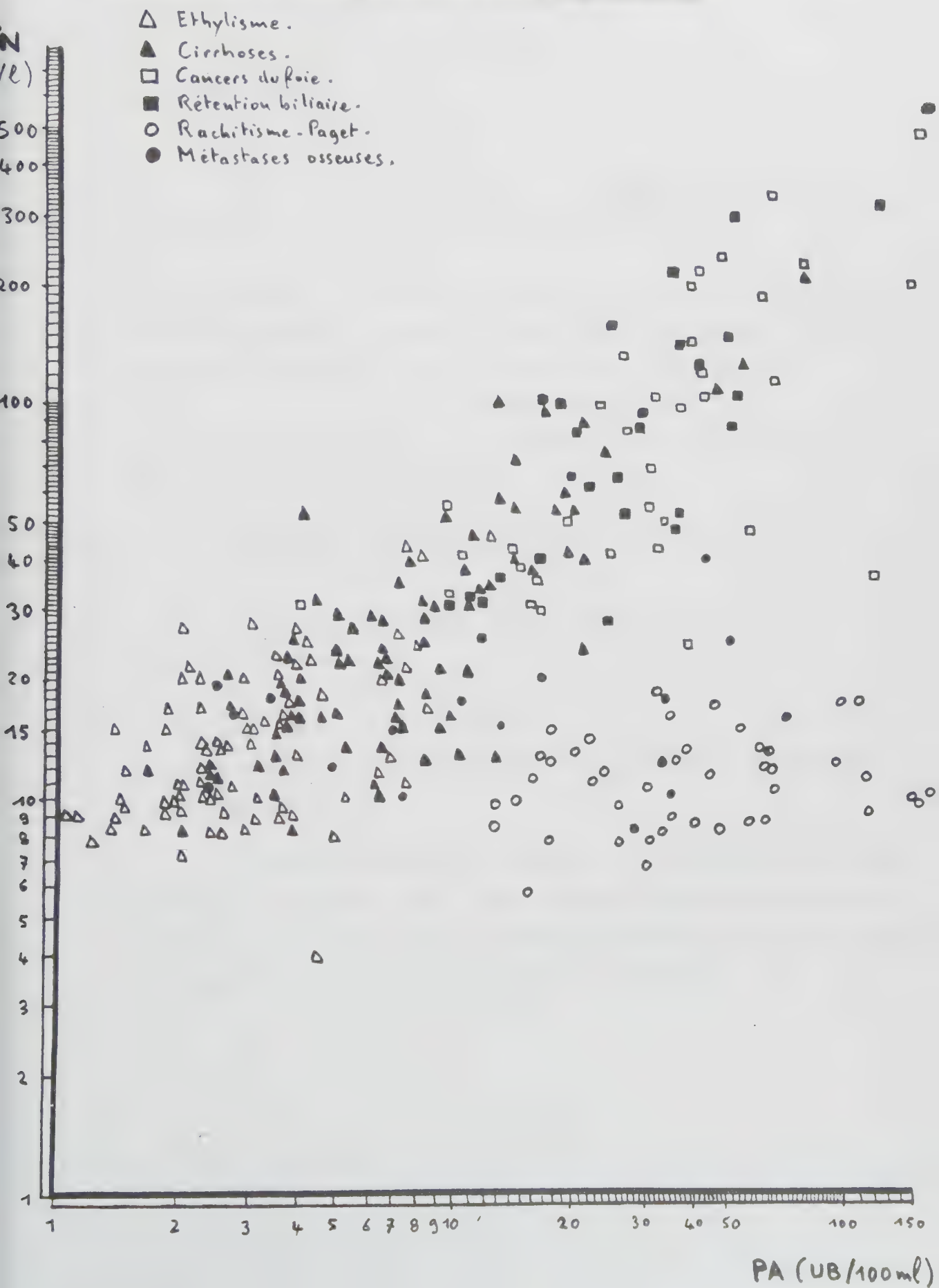
- les observations n° 282, 289, 520 sont celles de foies cardiaques avec des chiffres de 5'N respectivement à 22,5 ; 17,6 ; 23,4 UI/l, mais nous avons vu plus haut que certains foies cardiaques peuvent avoir des chiffres tout à fait normaux (observations n° 50 et 58).

Pour les observations restantes on note :

- : 2 syndromes septicémiques (observation n° 88 et n° 173) ;
- . 4 comas vasculaires cérébraux (observations n° 53, 94, 165, 287) ;
- . un diabète avec syndrome douloureux épigastrique et phlébite (observation n°95).

parmi ces 7 observations, 4 présentent une élévation de la γ GT, l'élévation de la 5'N n'est donc plus isolée et d'autre part la notion d'éthylisme mineur est difficile à affirmer chez un malade en coma vasculaire.

CORRÉLATION entre S'N et PA



44. CONCLUSION

Tout au long de cette analyse on a vu qu'un certain nombre d'incohérences étaient le fait d'imprécision diagnostique.

Il faut remarquer qu'un éthylysme banal peut perturber un bilan biologique, et être à l'origine de faux problèmes diagnostiques. Les élévations modérées de la 5'N perdent ainsi un peu de leur valeur.

Pour exploiter plus complètement les résultats du dosage des P. A. et des 5'N nous proposons d'utiliser :

- le produit nucléotido-phosphatasique (PNP)

$$\text{PNP} = 5'N \text{ (UI/l)} \times \text{PA (UB/100ml)}$$

- et le rapport nucléotido-phosphatasique (RNP)

$$\text{RNP} = \frac{5'N \text{ (UI/l)}}{\text{PA (UB/100ml)}}$$

Le PNP est normalement inférieur à 100, il s'élève quelque soit la pathologie envisagée.

Le RNP est normalement voisin de 2 ou 3, mais les variations physiologiques sont grandes, (de 1 à 10) ; il s'élève dans les affections hépatobiliaires et en particulier dans les rétentions biliaires et les cancers du foie, il s'abaisse dans les maladies osseuses à P. A. élevées.

VALEUR DU PNP et du RNP au cours de DIVERSES AFFECTIONS

Rétention biliaire :

	Valeur moyenne	Valeurs extrêmes	
PNP	4826	240	129360
RNP	3,3	1,1	6,7

Hépatites

PNP	936	12,6	3224
RNP	2,8	0,90	10,6

Coliques hépatiques :

PNP	72,17	9,12	520
RNP	3,4	1,8	9

Petits signes d'éthylisme ;

PNP	35	8,8	87
RNP	5,6	2	13,9

Cirrhoses :

PNP	275	29,9	7524
RNP	3,5	0,96	5,45

Cancers du foie

PNP	5500	512	123656
RNP	3,1	0,22	6,16

Métastases osseuses

PNP	334	61,4	1244
RNP	0,92	0,10	2,6

Hypovitaminoses D et maladie de Paget

PNP	505	102	1738
RNP	0,30	0,06	1,03

Nous proposons d'utiliser la clef suivante :

si le PNP est supérieure à 100, on forme le RNP qui est quant à lui :

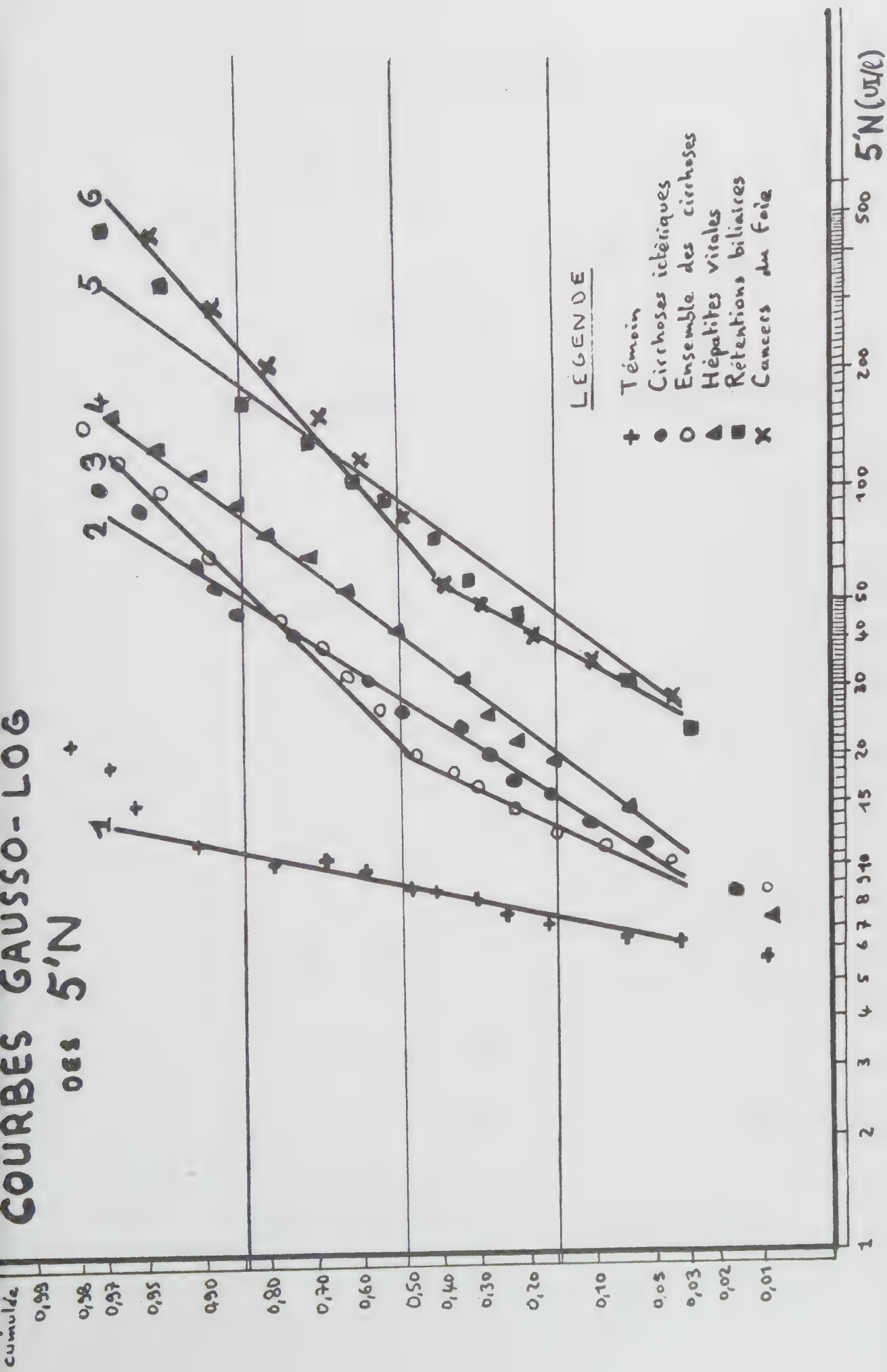
- soit supérieur à l'unité, on s'orientera vers la sphère hépato-biliaire,
- soit inférieur à l'unité, on s'orientera alors vers une affection osseuse.

Le mode d'expression précédent n'est pas entièrement satisfaisant car les valeurs sont très dispersées et peu aptes à la différenciation des affections hépatiques entre elles.

Lors de la répartition des taux de 5'N obtenus chez les sujets témoins il nous est apparu qu'elle se faisait selon un mode gaussien si l'on utilisait une échelle logarithmique pour les 5'N. Ceci se vérifie graphiquement : on obtient effectivement une droite si l'on utilise des coordonnées gausso-logarithmiques. Ce mode d'expression utilisé pour les différents groupes pathologiques nous permet d'obtenir un faisceau de droites représenté sur le graphique de la page suivante :

- courbe 1 : c'est la répartition des sujets témoins, cette droite est assez proche de la verticale, la variance est faible.
- courbe 2 : elle correspond aux cirrhoses ictériques.
- courbe 3 : elle correspond à l'ensemble des cirrhoses, la droite est brisée, ce fait est en rapport avec une double population. On peut remarquer que la partie supérieure de la droite se rapproche de celle des hépatites : il peut s'agir de cirrhose associée à un processus hépatitique.
- courbe 4 : c'est celle des hépatites virales.
- courbe 5 : correspondant aux rétentions biliaires
- courbe 6 : elle correspond aux cancers du foie, la droite est brisée il existe une double population : cancer avec et sans ictère.

2,5 N



Ce mode d'expression permet de voir, par exemple qu'un taux de 5'N égale à 50 UI/l regroupe :

- 85 % des cirrhoses
- 60 % des hépatites

mais seulement :

- 40 % des cancers du foie
- 30 % des rétentions biliaires.

Le malade a plus de chance d'avoir une cirrhose qu'un cancer du foie.

5. VALEUR ET PLACE DU DOSAGE DE LA

5'N NUCLEOTIDASE SERIQUE

Compte tenu de l'expérience acquise au cours de l'analyse de 585 observations chez lesquelles la 5'N a été dosée une ou plusieurs fois, et avec l'aide des données de la littérature, nous allons essayer de rechercher :

- l'apport diagnostique de la 5'N ;
- son rôle comme test de surveillance ;
- sa place dans un bilan biologique.

51. INTERET DU DOSAGE DE LA 5'N POUR L'ETABLISSEMENT DE CERTAINS DIAGNOSTICS

511. Diagnostic d'une hématomèse

Les hémorragies digestives hautes répertoriées dans nos observations surviennent au cours :

- de gastrite hémorragique le plus souvent médicamenteuse ;

- d'ulcère gastrique ;
- et de l'hypertension portale.

Dans la pathologie oesogastrique la 5'N est normale alors qu'elle peut être élevée au cours de l'obstacle hépatique au retour veineux. Le dosage de l'ammoniaque sanguin présente le même intérêt mais nécessite une déchéance hépatique massive pour s'élever. La 5'N quant à elle s'élève précocément lors d'atteinte minime du foie, et une hématomérose chez un éthylique même avec une 5'N un peu élevée n'est pas synonyme de cirrhose ; elle peut être due à un ulcère gastroduodénal. Ce fait limite l'intérêt du dosage de la 5'N dans ce syndrome.

512. Diagnostic d'un ictère

La distinction entre ictère par rétention et ictère par hémolyse peut être faite par la 5'N, mais les données fournies par le dosage de la bilirubine libre et conjuguée, associées aux tests d'hyper-hémolyse et en particulier la réticulocytose, suffisent amplement. Par contre au cours d'une hémolyse chronique, par exemple : l'anémie hémolytique par auto anticorps, le dosage de la 5'N permet de surveiller l'apparition éventuelle d'une affection hépatobiliaire.

Au sein des ictères par rétention la 5'N permet-elle de faire la distinction entre les ictères chirurgicaux c'est-à-dire par obstruction extra-hépatique et les ictères médicaux cholostatiques où l'abstention opératoire est préférable ?

Si pour la plupart des auteurs (6, 42, 77, 115, 182, 187, 193) l'élévation de la 5'N est un test d'atteinte des voies biliaires et du foie et singulièrement d'ictères par rétention, aucun n'apporte d'argument pour aider à la distinction entre obstruction intra ou extra hépatique. Davidge et Philpot (37), considèrent même que le dosage de la 5'N est moins intéressant que celui des PA pour le diagnostic différentiel des maladies hépatiques.

Dans notre travail, ictères médicaux et chirurgicaux ne peuvent non plus être distingués par le dosage de la 5'N. Mais contrairement à Davidge et Philpot (37) nous pensons que la 5'N est plus intéressante que les PA pour le diagnostic d'ictère par rétention, vraisemblablement du fait de la plus grande sensibilité de la méthode utilisée pour le dosage. En effet les 5'N augmentent plus que les PA et le rapport nucléotido-phosphatasique (RNP) s'élève. Actuellement la méthode la plus précise pour faire le diagnostic d'obstacle extra-hépatique est le cathétérisme endoscopique de la papille de Water.

513. Diagnostic d'un syndrome de "rétention anictérique"

Vinnick, Kern et Corley décrivirent en 1963 (184) les observations de 4 sujets sans ictère avec un taux normal de PA, mais avec des 5'N élevées. Le diagnostic histologique était celui d'angiocholite. Ces auteurs pensèrent que les canalicules biliaires étaient la source principale de 5'N, bien que les techniques histochimiques permirent à Wadstein et Meisel (186) de mettre en évidence une plus grande quantité de 5'N dans les cellules des parois sinusoidales que dans les cellules des canalicules biliaires.

Notre travail fait état d'un certain nombre de rétentions anictériques avec élévation des PA et des 5'N, principalement lors des lithiases cholédociennes prouvées par l'exploration chirurgicale. De plus, dans une de nos observations, la migration cholédocienne d'une lithiase vésiculaire avait entraîné l'élévation des seules 5'N.

Nous voyons là encore, une indication majeure du dosage de la 5'N, il n'est pas nécessaire d'attendre l'ictère rétionnel pour explorer plus complètement et traiter une obstruction biliaire à minima qui, insuffisante pour gêner l'écoulement de la bile n'en provoque pas moins une augmentation de la synthèse de 5'N.

514. Diagnostic d'une cirrhose

Chez les cirrhotiques la 5'N est pour nous plus souvent élevée que ne le sont les PA, contrairement aux résultats obtenus par divers auteurs (12, 44, 122, 123, 134), nous voyons là une preuve de la sensibilité de notre méthode de dosage qui nous permet d'obtenir une augmentation des 5'N dans 70 % des cas de cirrhoses alors que Pappo n'obtient cette élévation que dans moins de 50 % des cas (135) en utilisant la technique de Campbell (31).

Nous remarquons que la 5'N est toujours augmentée lorsque les PA le sont, alors qu'il est admis que lors d'une cirrhose les PA sériques sont d'origine intestinale (51, 61).

Dans notre étude, nous remarquons également une gradation dans l'élévation des 5'N de l'éthylique simple au cirrhotique confirmé. L'élévation chez l'éthylique est certes, là encore, une preuve de la sensibilité de notre méthode, mais cette qualité technique a l'inconvénient sur le plan clinique de devoir éliminer un éthylysme, dont on connaît l'extrême fréquence, avant de prendre en considération une élévation modérée, (entre 16,5 et 20 UI/l), de la 5'N.

Au cours des cirrhoses le taux de 5'N est parfois normal, et s'il est perturbé, il n'y a aucune corrélation entre son élévation et la gravité de la cirrhose encore que les taux les plus élevés s'observent lors des cirrhoses décompensées d'évolution souvent défavorable. Toutefois il convient d'envisager ce cas une élévation des 5'N due :

- à un processus hépatitique,
- ou à un hépatome.

La 5'N n'apporte pas d'élément au diagnostic de cirrhose, qui est du domaine de la PBF, mais permet d'en soupçonner une complication et d'en fixer le pronostic.

515. Diagnostic d'un cancer du foie

En 1965, Schwartz et Bodansky insistèrent les premiers sur l'intérêt du dosage des 5'N dans les cancers ayant une localisation hépatique (166). L'année suivante Smith (175) considéra la 5'N comme le moyen le plus sensible pour détecter un cancer primitif ou une métastase hépatique. Persijn nota même que dans cette pathologie l'élévation des 5'N précède celle des PA (141).

Nos résultats concordent entièrement avec les précédents, dans notre série l'élévation de la 5'N est constante, elle est même importante puisque dans la moitié des cas la valeur de la 5'N est supérieure à 100 UI/l et qu'elle est supérieure à 200 UI/l dans un quart des cas. Cette élévation de la 5'N nous semble donc d'un intérêt primordial au diagnostic de cancer hépatique primitif ou secondaire, et principalement en l'absence d'ictère.

Les taux élevés de 5'N au cours de cancer hépatique peuvent être s'expliquer par la présence d'une isoenzyme différente de l'enzyme physiologique comme cela a été démontré pour les PA où l'enzyme de Regan a des caractéristiques particulières (59, 74). La 5'N se trouve d'ailleurs dans les complexes lipidoprotéiniques polyenzymatiques mis en évidence par Shinkai dans les cancers hépatiques (169).

52. 5'N, TEST DE SURVEILLANCE

521. Surveillance de l'extension néoplasique

Nous avons vu que le taux de 5'N est normal ou subnormal dans les cancers de localisation diverses et lors des métastases osseuses alors qu'il est fortement élevé lors des métastases hépatiques. Ceci apporte une aide appréciable au bilan d'extension d'une affection néoplasique, et précise les indications opératoires ; par exemple, un cancer du rein avec métastase osseuse unique sera opéré, alors qu'une localisation hépatique fera sursoir à l'intervention. Le dosage de la 5'N apporte une aide essentielle au diagnostic de métastases hépatiques, au même titre que la scintigraphie ou l'artériographie, mais il est plus facile à mettre en œuvre.

522. Surveillance d'une hépatite virale

La 5'N est inutile au diagnostic de l'hépatite virale, d'autant plus que certains auteurs trouvent au début de l'affection, un taux plus faible que celui atteint par la suite (145). Par contre, lors de la surveillance d'une hépatite virale, la persistance d'un taux élevé de 5'N est en rapport avec la persistance de l'hépatite elle-même, et fait demander à l'histologiste s'il s'agit :

- d'une hépatite persistante ,
- d'une hépatite agressive,
- d'une cirrhose métaictérique.

523. Surveillance de la voie biliaire principale

La 5'N permet de se rendre compte de la perméabilité de la voie biliaire principale et d'un écoulement satisfaisant du flux biliaire comme l'on

montrée de nombreux auteurs (6, 42, 77, 115, 182, 187, 193) et comme nous le mettons également en évidence. Ceci permet donc de surveiller la perméabilité de la voie biliaire lors :

- d'une lithiase vésiculaire ;
- d'une pancréatite ;
- des suites opératoires sur la voie biliaire principale.

Ce dosage est particulièrement intéressant lorsque la bilirubine est normale, voir même lorsque les PA sont normales. L'élévation de la 5'N commande alors la cholangiographie intraveineuse ou mieux le cathétérisme endoscopique de la papille de Water.

524. Surveillance d'une affection osseuse à PA élevées

La plupart des auteurs (6, 42, 109, 115, 182, 193) soutiennent que la 5'N n'est pas modifiée dans les affections osseuses. En 1968, Hobbs (81) confirme ce fait en utilisant la technique de Campbell (31), mais l'on sait que Schwartz et Bodansky (165) reprochent à l'ion Ni^{++} d'inhiber les PA osseuses.

Tous d'abord Eshchar (50) utilisant la technique de Young (193) puis Beldfield et Goldberg (15, 16), Beckman et Leybold (10), Van Der Silk, et Persijn (182), utilisant chacun leur méthode de dosage respective, trouvent une légère élévation des 5'N lorsqu'existe une forte activité ostéoblastique. Kendall (101) trouve également une augmentation modérée de la 5'N dans un certain nombre de polyarthrites rhumatoïdes en utilisant la technique de Persijn (141).

Cette relation entre PA osseuses et 5'N peut être visualisée lorsqu'on établit les courbes d'évolution des taux de ces deux enzymes comme cela a été réalisé pour une de nos observations.

Lors d'une métastase osseuse un taux de 5'N qui s'élève doit faire rechercher une localisation hépatique de la maladie cancéreuse.

Par contre notre groupe de maladies de Paget ne montre aucune contamination du taux de 5'N par celui, très élevé, des PA d'origine ostéoblastique. Il est donc licite de se demander si l'isoenzyme osseux présent lors d'une métastase est identique à l'isoenzyme physiologique : il lui suffirait en effet d'une affinité plus grande pour la 5'AMP que la PA osseuse physiologique, pour que le résultat des 5'N soit erroné.

Compte tenu de ces restrictions, nous pensons néanmoins que le dosage des 5'N peut rendre de grands services dans le diagnostic d'une affection hépatobiliaire lors de la surveillance d'une ostéopathie à PA élevées. La 5'N prend alors tout l'intérêt que l'on accorde classiquement aux PA dans les affections hépto-biliaires.

525 - Surveillance thérapeutique

Certains médicaments sont réputés être à l'origine d'hépatites cholestatiques, il en est ainsi des phénothiazines, des antithyroïdiens de synthèse, des arsenicaux, de certains sulfamides et de dérivés hormonaux.

Dubois (44) et Moretti (122) indiquent donc que la 5'N peut être utilisée pour surveiller une telle thérapeutique. Persijn (141) utilise la 5'N comme test de surveillance de la prise de contraceptifs oestro-progestatifs et observe, à long terme, une élévation modérée de la 5'N, démontrant ainsi une réaction hépatique au traitement. Les préparations pharmaceutiques étant actuellement microdosées et les intolérances pratiquement inexistantes, il ne nous a pas semblé utile d'étudier l'effet des oestro-progestatifs sur le taux sérique de 5'N. Par contre nous pensons que la prise d'un nouveau médicament, pour lequel un risque cholestatique a été soupçonné expérimentalement, peut être surveillée par le dosage de la 5'N et particulièrement en utilisant notre méthode de dosage dont nous avons déjà évoqué la grande sensibilité.

53. PLACE DU DOSAGE DE LA 5'N SERIQUE

531. 5'N et examens systématiques

L'intérêt de dosage des 5'N a été diversement apprécié par les auteurs : Davidge et Philpot (37) estiment inutile le dosage de la 5'N pathologie hépato-biliaire, à l'opposé Hill et Sammons qui mirent au point la première méthode automatique de dosage de la 5'N (76) proposèrent d'en faire un examen systématique (75).

Hobbs (81) propose de réserver ce dosage aux sujets présentant des PA augmentées et de préciser ainsi l'isoenzyme en cause ; ceci nous suggère deux remarques :

- devant un ictère ayant les attributs d'un ictère rétionnel, l'origine de l'iso PA nous semble évidente ;
- cet auteur passe systématiquement à côté des élévations isolées de la 5'N qui pour nous :
 - . appartiennent à un syndrome de rétention sans ictère ;
 - . ou restent parfois de cause indéterminée et doivent de ce fait être particulièrement étudiées.

Au terme de ce travail nous pensons que la 5'N peut faire l'objet d'un dosage systématique.

532. Les indications du dosage de la 5'N

La 5'N est indispensable chaque fois qu'elle est le seul élément perturbé d'un bilan biologique et chaque fois que les PA ne peuvent être utilisées comme test de rétention biliaire : qu'elles soient élevées pour des raisons physiologiques ou pathologiques.

Nous conseillons de demander le dosage sérique de la 5'N dans les circonstances suivantes :

- surveillance d'une hépatite virale ;
- bilan d'extension d'une affection néoplasique
- PA élevées isolément en dehors de toute atteinte hépatique connue ;
- suspicion d'une atteinte hépato-biliaire ;
 - . lors d'une ostéopathie à PA élevées ;
 - . chez une femme enceinte ;
 - . chez un enfant.

533. Avenir de la 5'N

Tant en France (11, 51) qu'à l'étranger (30, 160), la 5'N trouve sa place dans les bilans de cholestase et se trouve donc en compétition avec de nouveaux tests tels que :

- les phospholipides extractibles par le trichloréthylène,
- le test de Jirgl au réactif de Folin-Ciocalteu,
- ou d'autres déterminations enzymatiques :
 - . γ GT
 - . LAP

Connell et Dinwoodie (34) utilisant la méthode de Campbell trouvent au dosage de la 5'N une sensibilité moindre que l'étude des PA sériques en gel d'amidon, mais la technique de dosage des 5'N est plus simple.

A notre connaissance on n'a pas encore découvert d'hypo 5' nucléotidasémie alors que l'on connaît des hypophosphatasémies ; un tel déficit permettrait peut être de soupçonner le substrat physiologique de la 5'N comme celà a été fait pour les PA non spécifiques (62).

Au dosage sérique de la 5'N on peut adjoindre son dosage dans d'autres humeurs ; liquide synovial, liquide pleural, ascite ; ou sa mise en évidence histochimique sur des biopsies de foie ou de rein.

L'étude des rapports de la 5'N et du rein seraient peut être à étudier en se basant sur les faits suivants :

- il existe une excrétion urinaire de 5'N alors que :
 - . d'une part les PA sériques ne passent pas le filtre rénal,
 - . et que d'autre part la 5'N a un PM supérieur à celui des PA.
- dans notre série un certain nombre d'urémiques ont un taux de 5'N un peu élevé.
- la synthèse rénale de l'enzyme a été envisagée par certains auteurs (44, 122, 123).

6. CONCLUSION

61. Cette thèse comprend un exposé récapitulatif et synthétique des différentes méthodes d'analyse des isoenzymes des phosphatases alcalines et des méthodes de dosage de la 5'nucléotidase.

62. Après ce rappel, il est décrit une méthode semi-automatique originale de dosage de la 5'nucléotidase sérique. L'intérêt de cette méthode réside principalement dans sa grande sensibilité :

- qui donne une échelle des valeurs pathologiques très étendue, (jusqu'à 660 UI/l dans notre série),
- et qui permet de tenir compte pour l'interprétation clinique, des augmentations minimales au-dessus de la valeur de 16,5 UI/l retenue comme limite supérieure de la normale, cette valeur englobe 96,5 % des sujets sains.

63. Nous avons étudiés 585 dossiers et effectués environ 850 dosages de la 5'N. Cette étude nous permet de montrer l'existence d'une corrélation entre le taux de la 5'N et celui des PA. dans les affections hépato-biliaires. Néanmoins la plus grande sensibilité du dosage de la 5'N en fait un test de cholestase plus précocément perturbé que les PA, et particulièrement intéressant dans les

"rétentions anictériques" où les PA sont parfois normales.

En plus de la sensibilité plus grande de la 5'N par rapport aux PA, le dosage de cette enzyme présente l'avantage sur ces dernières d'une spécificité hépato-biliaire.

La 5'N est également très utile au diagnostic de cancer du foie, qu'il s'agisse d'une tumeur primitive ou secondaire. Ce dosage est donc en pratique indispensable au diagnostic d'extension et à la surveillance d'une affection néoplasique.

Le dosage de la 5'N présente un grand intérêt lors des affections osseuses s'accompagnant d'une hyperphosphatasémie où il constitue un moyen simple, spécifique et sensible de surveiller le libre écoulement du flux biliaire sans pouvoir toutefois préciser l'origine hépatique ou extra-hépatique d'une éventuelle rétention.

64. Le dosage sérique de l'enzyme de Reis peut donc, et avec avantage se substituer en pratique courante à celui des P. A dans l'exploration hépato-biliaire, et donc être choisi comme test de rétention biliaire de l'enzymogramme hépatique.

BIBLIOGRAPHIE

BIBLIOGRAPHIE

- 1 . AALUND, O., RENDEL, J., FREEDLAND, R.A.,
Isolation and characterization of ovine alkaline phosphatases.
Biochim. Biophys. Acta, 1965, 110, 113.
- 2 . AHMED, Z., REIS, J.L.,
The activation and inhibition of 5' nucleotidase.
Biochem. J., 1958, 69, 386-87.
- 3 . ARVY, L.,
Technique de détection de la 5' nucléotidase.
Rev. franç. Et. clin. biol., 1956, I, 1040-1046.
- 4 . ASSOUS, E., DREUX, C., GIRARD, M.
Ann. Biol. Clin., 1960, 18, 319.
- 5 . BAHR, M., WILKINSON, J.H.,
Urea as a selective inhibitor of human tissue alkaline phosphatases.
Clin. Chim. Acta, 1967, 17, 367-70.
- 6 . BARDAWILL, C., CHANG, C.,
Serum lactic dehydrogenase, leucine aminopeptidase and 5' nucleotidase
activities : observations in patients with carcinoma of pancreas and hepa-
tobiliary diseases.
Can. Med. Assoc. J. 1963, 89, 755.
- 7 . BARKAT, HOLZNER, H.,
Studies of the heterogeneity of specific phosphatases of liver.
Ann. Histochem., 1962, 7, 43-50.
- 8 . BARON, D.N., MOSS, D.W., WALKER, P.G., WILKINSON, J.H.,
Abbreviations for names of enzymes of diagnostic importance.
J. Clin. Pathol., 1971, 24, 656.
- 9 . BATSAKIS, J.G., BEVERLY, J., KREMERS, M.T.
"Biliary tract enzymology" A clinical comparison of serum alkaline phos-
phatase, leucine aminopeptidase, and 5' nucleotidase.
Amer. J. Clin. Path., 1968, 50, 485-90.
- 10 . BECKMANN, J., LEYBOLD, K., WEISBECKER, L.,
Zur Bestimmung der 5' Nucleotidase im Serum.
Klin. Chem. Klin. Biochem., 1969, 7, 18-24.

- 11 . BEL, A.,
Enzymes sériques et cholostase.
Lyon Méd., 1972, 228, 221-22.
- 12 . BELFIELD, A.,
Serum alkaline phosphatase and 5' nucleotidase activities in patients with hepatobiliary disease.
Clin. Chim. Acta, 1972, 37, 525-29.
- 13 . BELFIELD, A., ELLIS, G., GOLDBERG, D. M.,
A specific colorimetric 5' nucleotidase assay utilizing the Berthelot reaction.
Clin. Chem., 1970, 16, 396-401.
- 14 . BELFIELD, A., GOLDBERG, D.M.,
Inhibition of the nucleotidase effect of alkaline phosphatase by beta-glycerophosphate.
Nature, 1968, 219, 73-74.
- 15 . BELFIELD, A., GOLDBERG, D.M.,
Application of a continuous spectrophotometric assay for 5' nucleotidase activity in normal subjects and patients with liver and bone disease.
Clin. Chem., 1969, 15, 931-9.
- 16 . BELFIELD, A., GOLDBERG, D.M.,
Activation of serum 5' nucleotidase by magnesium ions and its diagnostics applications.
J. clin. Pathol., 1969, 22, 144-51.
- 17 . BELFIELD, A., GOLDBERG, D.M.
Comparison of sodium B-glycerophosphate and disodium phenylphosphate as inhibitors of alkaline phosphatase in determination of 5' nucleotidase activity of human serum.
Clin. Biochem., 1970, 3, 105-10.
- 18 . BELFIELD, A., GOLDBERG, D.M.,
Normal ranges and diagnostic value of serum 5' nucleotidase and alkaline phosphatase activities in infancy.
Arch. Dis. Child., 1971, 46, 842-6.
- 19 . BERGERMAN, J., BLETHEN, S.,
Determination of alkaline phosphatase isoenzymes.
Clin. Chim. Acta, 1972, 36, 389-96.
- 20 . BERTHELOT, M.,
Violet d'aniline.
Report. Chim. Appl., 1859, 1, 284.
- 21 . BIRKETT, D.J., CONYERS, R.A.J., NEALE, F.C, POSEN, S.,
Action of urea on human alkaline phosphatases : with a description of some automated techniques for the study of enzyme kinetics.
Arch. Biochem. Biophys., 1967, 121, 470-9.

- 22 . BODANSKY, O.,
Are the phosphatases of bone, kidney, intestine and serum identical ?
The use of bile acids in their differentiation.
J. Biol. Chem., 1937, 118, 341.
- 23 . BODANSKY, O.,
Mechanism of inhibition of phosphatase activity by glycine.
J. Biol. Chem., 1946, 165, 605-13.
- 24 . BODANSKY, O., SCHWARTZ, M.K.,
Comparative effects of L-histidine on the activities of 5' nucleotidase and alkaline phosphatase.
J. Biol. Chem., 1963, 238, 3420-27.
- 25 . BODANSKY, O., SCHWARTZ, M.K.,
5' nucleotidase.
Biochim. adv., 1968, 11, 277-328.
- 26 . BOOTSMA, J., WOLTERS, B.G., GROEN, A.,
Determination of serum 5' nucleotidase by means of NADH-linked reaction.
Clin. Chim. Acta, 1972, 41, 219-22.
- 27 . BOYER, S.H.,
Human organ alkaline phosphatases : discrimination by several means including starch gel electrophoresis of antienzyme-enzyme supernatant fluids.
Ann. N.Y. Acad. Sci., 1963, 103, 938.
- 28 . BURGER, R.M., LOWENSTEIN, J.M.,
Preparation and properties of 5' nucleotidase from smooth muscle of small intestines.
J. Biol. Chem., 1970, 245, 6274-80.
- 29 . CADEAU, B.J., MALKIN, A.,
A relative heat stability test for the identification of serum alkaline phosphatase isoenzymes.
Clin. Chim. Acta, 1973, 45, 235-242.
- 30 . CAMMAROTA, H.E.,
Valor clinico de la 5'-nucleotidasa del suero sanguineo.
Prensa. méd. argent., 1969, 56, 1127-28.
- 31 . CAMPBELL, D.M.,
Determination of 5' nucleotidase in blood serum.
Biochem. J., 1962, 82, 34P.
- 32 . CAPUTO, M.J., TAFT, D.M.,
Separation of serum alkaline phosphatases by micro starch gel electrophoresis.
Amer. J. Clin. Pathol., 1971, 56, 220-4.

- 33 . CHANEY, A.L., MARBACH, E.P.,
Modified reagents for determination of urea and ammonia.
Clin. Chem., 1962, 8, 131.
- 34 . CONELL, M.D., DINWOODIE, A.J.,
Diagnostic use of serum alkaline phosphatases isoenzymes and 5' nucleotidase.
Clin. Chim. Acta, 1970, 30, 235-41.
- 35 . CONYERS, R.A.J., BIRKETT, D.J., NEALE, F.C., POSEN, S.,
The action of urea and EDTA on human alkaline phosphatases.
Austr. J. Biol. Sci., 1966, 29, 83.
- 36 . CORI, G.T., COLOWICK, S.P., CORI, C.F.,
The action of nucleotides in the disruptive phosphorylation of glycogène.
J. Biol. Chem., 1938, 123, 381-89.
- 37 . DAVIDGE, R.C., PHILPOT, G.R.,
Differential diagnosis of liver disease by serum 5' nucleotidase.
Proc. Assoc. Clin. Biochem., 1966, 4, 36.
- 38 . DELSAL, J.L., MANHOURI, H.,
Etude comparative des dosages colorimétriques du phosphore.
IV : dosage de l'orthophosphate en présence d'esters phosphoriques.
Bul. Soc. Chim. Biol., 1958, 40, 1623.
- 39 . DEMETRIOU, J.A., BEATTIE, J.M.,
Electrophoretic separation on agarose thin film of isoenzymes of alkaline phosphatase from human serum and tissue.
Clin. Chem., 1971, 17, 290-5.
- 40 . DINGJAN, P.G., POSTMA, T., STROES, J.A.P.,
Quantitative differentiation of human serum alkaline phosphatase isoenzymes with polyacrylamide disc gel electrophoresis.
Klin. Chem. klin. Biochem., 1973, 11, 167-71.
- 41 . DIOT, M.N., RONESSE, J., BOHUON, C.,
Dénaturation thermique des isoenzymes de la phosphatase alcaline sérique son intérêt dans l'étude des cancers métastatiques.
Ann. Biol., Clin., 1971, 29, 309.
- 42 . DIXON, T.F., PURDOM, N.,
Serum 5' nucleotidase.
J. Clin. Path., 1954, 7, 341-3.
- 43 . DOMENECH, J.,
Etude de la cinétique enzymatique de la 5' nucléotidase et inhibition par le substrat. Application au serum et au tissu rénal humain.
Thèse doct. pharm. Tours, 1973, 142 p.

- 44 . DUBOIS, H.G.,
La 5ⁱ nucléotidase : une phosphatase alcaline hépato-biliaire spécifique.
Thèse doct. med., Bordeaux, 1970, n° 275.
- 45 . DUNNE, J., FENNELLY, J.J., Mc GEENEY, K.,
Separation of alkaline phosphatase enzymes in human serum using gel-filtration (Sephadex G-200) techniques.
Cancer, 1967, 20, 71-6.
- 46 . DUNNE, J., FENNELLY, J.J., Mc GREENEY, K.,
Shay chloroma alkaline phosphatase.
Biochem. U., 1968, 110, 12P.
- 47 . DYMLING, J.F.,
Separation of serum and placental alkaline phosphatase by agarose gel electrophoresis and Sephadex chromatography.
Scand. J. Clin. Lab. Invest., 1966, 18, 129.
- 48 . EDWARDS, M.H., MAGUIRE, M.H.,
Purification and properties of rat heart 5ⁱ nucleotidase.
Molec. Pharmacol., 1970, 6, 641-8.
- 49 . ELLIS, G., BELFIELD, A., GOLDBERG, D.M.,
An NADH-linked kinetic 5ⁱ nucleotidase assay.
(7th. Int. Congr. Clin. Chem.)
Enzymol. Biol. Clin., 1969, 10, 349.
- 50 . ESHCHAR, J., RUDSKI, C., ZIMMERMAN, H.J.,
Serum levels of 5ⁱ nucleotidase in diseases.
Amer. J. Clin. Path., 1967, 47, 598-605.
- 51 . ETIENNE, J.P., MALHURET, A., CHAPUT, J.C.,
Les enzymes de la cholestase.
G.M. de France, 1973, 80, 5951-62.
- 52 . FENNELLY, J.J., FITGERALD, M.X., Mc GEENEY, K.,
Value of differential thermostability, urea inhibition and gel filtration of alkaline phosphatase in the identification of disease states.
Gut. G.B., 1969, 10, 45-51.
- 53 . FIORETTI, E., CAULINI, G., MAGNI, G.,
Spectrophotometric assay for 5ⁱ nucleotidase using IMP, GMP and CMP as substrates.
Ital. J. Biochem., 1972, 21, 102-12.
- 54 . FISHMAN, W.H., GHOSH, N.K.,
Isoenzymes of human alkaline phosphatase.
Advan. Clin. Chem., 1967, 10, 255.

- 55 . FISHMAN, W.H., GREEN, S.,
Automated differential isoenzyme analysis. I : L-phenylalanine sensitive
isoenzymes of human serum alkaline phosphatase.
Enzymologia, 1967, 33, 89-99.
- 56 . FISHMAN, W.H., GREEN, S., INGLIS, N.I.,
L-phenylalanine an organspecific stereo-specific inhibitor of human
intestinal alkaline phosphatase.
Nature, 1963, 198, 685.
- 57 . FISHMAN, W.H., KSIEN-GIEN SIE,
L-homoarginine : an inhibitor of serum "bone and liver" alkaline phosphatase
Clin. Chim. Acta, 1970, 29, 339-41.
- 58 . FISHMAN, W.H., INGLIS, N.I., GHOSH, N.K.,
Clin. Chim. Acta, 1968, 19, 71.
- 59 . FISHMAN, W.H., INGLIS, N.R., GREEN, S., ANSTISS, C.L.,
Immunology and biochemistry of Regan isoenzyme of alkaline phosphatase
in human cancer.
Nature, 1968, 219, 697.
- 60 . FISKE, C.H., SUBBAROW, Y.,
The colorimetric determination of phosphorus.
J. Biol. Chem., 1925, 66, 375.
- 61 . FLECHAIRE, A.,
Intérêt du dosage couplé des phosphatases alcalines et de la 5' nucleo-
tidase en pathologie osseuse.
Thèse doct. méd., Lyon, 1967, n° 214.
- 62 . FRENKEL, M., VANTRIET, I.A.J.,
Interpretation of elevated serum alkaline phosphatase levels.
The significance of 5' nucleotidase and of the isoenzyme fractions.
Israel med.J., 1964, 23, 18-28.
- 63 . FRITCHE, H.A., ADAMS-PARK, H.R.,
Cellulose acetate electrophoresis of alkaline phosphatase isoenzymes in
human serum and tissue.
Clin. Chem., 1972, 18, 417-21.
- 64 . GENTIT, F.,
L'ornithine carbamyl transférase. Méthode de dosage, intérêt en
pathologie.
Thèse doct. méd., Lille, 1965.
- 65 . GERLARCH, U.,
Enzymativität im Serum bei Krankheiten der Lever und Gallenwege.
in "Praktische Enzymologie".
I vol., Bern 1968, Huber Verlag ed.

- 66 . GIBSON, W.B., DRUMOND, G.I.,
Properties of 5ⁱ nucleotidase from avian heart.
Biochemistry, 1972, 11, 223-29.
- 67 . GOLDBERG, D.M., ELLIS, G.,
Routine determination of 5ⁱ nucleotidase activity of human serum using
the LKB 8 600 reaction rate analyser.
J. Clin. Pathol., 1972, 25, 907-9.
- 68 . GREEN, S., ANSTISS, C.L., FISHMAN, W.H.,
Automated differential isoenzyme analysis. II. The fractionation of
serum alkaline phosphatase into "liver", "intestinal" and "other"
components.
Enzymologia, 1971, 41, 19-26.
- 69 . GREEN, S., PIRNIK, M.P., SHARKEY, L.J., BABSON, AL.,
FISHMAN, W.H.,
Phenolphthalein monophosphate as a substrate for the placental
isoenzyme of alkaline phosphatase in pregnancy serum.
Enzymologia, 1970, 38, 243-52.
- 70 . HAIJE, W.G., et DE JONG, M.,
Isoenzyme patterns of serum alkaline phosphatase in agar-gel
electrophoresis and their clinical significance
Clin. Chim. Acta, 1963, 8, 620.
- 71 . HANKIEWICZ, J., RACZYNSKA, B.,
Essai de differenciation de la phosphatase alcaline du serum sanguin
à l'aide de chloroforme.
Arch. Med., wewnetr., 1966, 37, 655-9.
- 72 . HARCOURT-WEBER, J.N., STOTT, N.C.H.,
L'étude histochimique de la 5ⁱ nucleotidase dans la glande thyroïde
humaine.
J. Roy. micr. Soc., 1965, 84, 155-160.
- 73 . HEPPEL, L.A., KILMOE, R.J.,
Purification and properties of 5ⁱ nucleotidase.
J. Biol. Chem., 1951, 188, 665-676.
- 74 . HIGASHINO, K., HASHINOTSUME, M.,
Studies on a variant alkaline phosphatase in sera of patients with
hepato-cellular carcinoma.
Clin. Chim. Acta, 1972, 40, 67-81.
- 75 . HILL, P.G., SAMMONS, H.G.,
5ⁱ nucleotidase a liver function test.
Proc. Assoc. Clin. Biochem., 1965, 3, 274.
- 76 . HILL, P.G., SAMMONS, H.G.,
An automated method for the determination of serum 5ⁱ nucleotidase.
Clin. Chim. Acta, 1966, 13, 739-745.

- 77 . HILL, P.G., SAMMONS, H.G.,
An assesement of 5' nucleotidase as liver-function test.
Quart. J. Med., 1967, 36, 457-468.
- 78 . HILL, P.G., SAMMONS, H. G.,
Further studies on human alkaline phosphatases and 5' nucleotidases.
Enzym. Biolo. Clin., 1969, 10, abst. 2.2.1.4.
- 79 . HILL, P.G., SAMMONS, H.G.,
The pH optimum of human 5' nucleotidase.
Enzyme, 1971, 12, 201-211.
- 80 . HOFFMANN, V., HOSENFELD, D.,
Eine neue Methode zur Darstellung der Isoenzyme der alkalischen
Serumphosphatase mit hilfe der flachdisk-Elektrophorese.
Med. Wett., Disch., 1971, 22, 749-52.
- 81 . HOBBS, J.R., CMAPBELL, D.M., SCHEUER, P.J.,
The clinical value of serum 5' nucleotidase assay.
6 th. Int. Cong. of Clin. Chem., Munich, 1966, vol. 2 : Clinical Karger,
Basel, 1968.
- 82 . HORNE, M., CORNISH, C.J., POSEN, S.,
Use of urea denaturation in the identification of human alkaline
phosphatases.
J. Lab. Clin. Med., 1968, 72, 905.
- 83 . HOUSSET, E., ETIENNE, J.P., PETITE, J.P.,
Etude de l'activité phosphatase alcaline et des 5' nucleotidases du serum.
Résultats cliniques et expérimentaux.
Rev. Int. Hepat., 1967, 17, 519-536.
- 84 . HUANG, C.M., KEEMAN, T.W.,
Preparation and properties of 5' nuclotidases from bovine milk fat
globule membranes.
Biochem. Biophys., Acta, 1972, 274, 246-257.
- 85 . HUSSON, J.M., BLEICHNER, G., FOLIOT, A., BOULU, R., PETITE,
J.P., ETIENNE, J.P., HOUSSET, E.,
Inhibition des phosphatases alcalines seriques par la L-phenylalanine.
Etude au cours de diverses affections hepato-biliaires chez l'homme.
Arch. fr. Mal. Appar. digest., 1972, 61, 555-566.
- 86 . IINO, S., ABE, K?, ODA, T., SUZUKI, M., SUGIVRA, M.,
A new method of radio immuno-assay for human placental alkaline
phosphatases.
Clin. Chim. Acta, 1972, 42, 161-5.
- 87 . IPATA, P.L.,
A coupled optical enzyme assay for 5' nucleotidase.
Anal. Biochem. 1967, 20, 30-6.

- 88 . IT-KOON TAN, LEE-FOON CHIO, LIM TEOW-SUAH,
Heat stability of human serum alkaline phosphatase in bone and liver diseases.
Clin. Chim. Acta, 1972, 41, 329-334.
- 89 . IT-KOON TAN, MOOS, D.W.,
The estimation of intestinal alkaline phosphatase in human blood serum.
Clin. Chim. Acta, 1969, 25, 117-125.
- 90 . ITOH, R., TSUSHIMA, K.,
5' nucleotidase of bovine liver.
Internation. J. Biochem., 1971, 2, 651-56.
- 91 . JENNINGS, R.C., BROCKLEHURST, D., HIRST, M.,
A comparative study of alkaline phosphatase enzymes using starch-gel electrophoresis and sephadex gel-filtration with special reference to high molecular weight enzymes.
Clin. Chim. Acta, 1970, 30, 509-517.
- 92 . JOHNSON, R.B.,
An new fluorometric method for the estimation or detection of total and fractionated alkaline phosphatase.
Clin. Chem., 1969, 15, 108-23.
- 93 . JOHNSON, R.B., ELLINGBOE, K., GIBBS, P.,
A study of various electrophoretic and inhibition for separating serum alkaline phosphatases isoenzymes.
Clin. Chem., 1972, 18, 110-115.
- 94 . JONQUIERT, F., NYSEN, M., PLUMET, A., DORCHE, J.,
Application de l'automatisation à la détermination de la 5' nucleotidase sérique chez l'homme.
Clin. Chim. Acta, 1972, 42, 361-372.
- 95 . KALCKAR, H.M.,
Differential spectrophotometry of purine compounds by means of specific enzymes.
J. Biol. Chemistry, 1947, 167, 445-461.
- 96 . KAPLAN, M.M.,
Current concepts : Alkaline phosphatase;
New. Eng. Jour. Med., 1972, 286, 200-202.
- 97 . KAPLAN, MM; ROGERS, L.,
Separation of human serum alkaline-phosphatase isoenzymes by polyacrylamide gel electrophoresis.
Lancet, 1969, 2, 1029-31.
- 98 . KAY, H.D.,
Plasma phosphatase in osteitis deformans and in other diseases of bone.
Brit. J. Exper. Path., 1929, 10, 253-6.

- 99 . KAY, H.D.,
J. Biol. Chem., 1930, 89, 235.
- 100 . KAY, H.D.,
Phosphatase in growth and disease of bone.
Physiol. Rev., 1932, 12, 384-422.
- 101 . KENDALL, M. J., BOLD, A.M.,
5' nucleotidase in the serum and synovial fluid of patients with
rheumatoid disease.
Lancet, 1971, 2, 1012-3.
- 102 . KING, E. J.,
Microanalysis in medical biochemistry.
I vol., Churchill Ed., London 1964.
- 103.. KING, E. J.,
Practical clinical enzymology.
I vol. Van Nostrand Ed. Londres 1965.
- 104 . KLEIN, W.,
Über Kartoffel-Nucleotidase.
Z. Physiol. Chem., 1957, 307, 247-62.
- 105 . KLUGE, H., HARTMANN, W., WIECZOREK, V., ZAHLTEN, W.,
Kinetic properties of cerebral 5' nucleotidase.
J. Neurochem., 1972, 19, 1409-11.
- 106 . KOHN, J., REIS, J.L.,
Bacterial nucleotidases.
J. Bacteriol., 1963, 86, 713-16.
- 107 . KONOPKA, K., GROSS-BELLARD,
The influence of détergents on the activity of 5' nucleotidase
(EC 3.A.3.5.) in rat liver homogenates.
Enzym., 1972, 13, 269-77.
- 108 . KOWLESSAR, Q., HAEFFNER, J., RILEY, E.,
Localisation of serum leucine aminopeptidase, 5' nucleotidase and non
specifique alkaline phosphatase by starch-gel electrophoresis clinical
and biochemical significance in disease states.
Ann. N.Y. Acad. Sci., 1961, 94, 836-48.
- 109 . KOWLESSAR, O., HAEFFNER, J., RILEY, E., SLEISINGER, M.,
Comparative study of serum leucine aminopeptidase 5' nucleotidase and
non specific alkaline phosphatase in diseases affecting the pancreas,
hepatobiliary tree and bone.
Amer. J. Med., 1961, 21, 231-37.
- 110 . KOWLESSAR, O., PERT, J.H., HAEFFNER, L.J., SLEISINGER, M.,
Proc. Soc. exp. Biol., 1959, 100, 191.

- 111 . LANDAU, W., SCHLAMOWITZ, M.,
Studies of factors related to the differenciation of alkaline phosphatases derived from several tissues.
Arch. Biochem., 1961, 95, 474.
- 112 . LATNER, A.L.,
Isoenzymes.
Advan. Clin. Chem., 1966, 9, 69.
- 113 . LATNER, A.L., PARSONS, M.E., SKILLEN, A.W.,
Isoelectric focusing of human liver alkaline phosphatase.
Biochem. J., 1970, 118, 299-302.
- 114 . LATNER, A.L.,
In RUYSSSEN, R., VAN DEN DRIESSE, L.,
Enzymes in clinical chemistry.
I vol., p 110, Elsevier Ed. Amsterdam 1965.
- 115 . LEJEUNE, E., BOUVIER, M., RUITTON, P., QUENEAU, P.,
FLECHAIRE, A.,
Etude du dosage couplé des phosphatases alcalines et de la 5' nucleotidase en pathologie osseuse.
Lyon Méd., 1972, 228, 229-35.
- 116 . LENGLET, J.P., BEL, A., DINJEON, B.,
Etude della 5' nucléotidase sérique dans 234 cas d'affections hépatobiliaires comparés à 203 témoins.
Lyon Méd., 1972, 228, 223-28.
- 117 . LEYBOLD, K., BECKMANN, J., WEISBECHER, L.,
Kinetische Bestimmung der 5' Nucleotidase im Serum.
Klin. Chem. klin. Biochem., 1969, 7, 25-7.
- 118 . LUKE, D., WOLF, P.L.,
Evaluation of the heat stability-lability of serum alkaline phosphatase utilizing a new chemical technique.
Enzymologia, 1970, 39, 129-33.
- 119 . MARKERT, C.L., MOLLER, F.,
Proc; nat. Acad. Sci., 1959, 45, 753.
- 120 . METZ, M., PINSKY, A., WILKINSON, J.K.,
The inhibitory effect of the urea-urease system on human tissue alkaline phosphatases.
Clin. Chim. Acta, 1970, 30, 325-30.
- 121 . MOOG, F., VIRE, H.R., GRAY, R.D.,
The multiple forms of alkaline phosphatases in the small intestine of young mouse.
Biochim. Biophys. Acta, 1966, 113, 336.

- 122 . MORETTI, G., STAEFFEN, J., BALLAN, P., FERRER, J., DUBECQ, J.P., ROQUES, J.C., BEYLOT, J., BROUSTET, A.,
La 5' nucléotidase : une phosphatase alcaline hépato-biliaire spécifique.
Sem. Hôp. Paris, 1970, 46, 3004-12.
- 123 . MORETTI, G., STAEFFEN, J., BALLAN, P., FERRER, J., DUBECQ, J. P., ROQUES, J.C., BEYLOT, J., BROUSTET, A., AMOURETTI, M., SERLES, C.,
Une phosphatase alcaline hépato-biliaire spécifique : la 5' nucléotidase.
Journal de médecine de Lyon, 1973, 54, 37-56.
- 124 . MOSS, D.W.,
Separation of serum 5' nucleotidase and non specific alkaline phosphatase activities.
Nature, 1966, 209, 806-807.
- 125 . MOSS, D.W.,
Comparative effects of chemical modification on human alkaline phosphatase.
Biochem. J., 1970, 118, 17P-18P.
- 126 . MOSS, D.W.,
Determination of intestinal alkaline phosphatase in serum by substrate-specificity measurements.
Clin. Chim. Acta, 1971, 35, 413-19.
- 127 . MOSS, D.W., CAMPBELL, D.M., ANAGNOSTOU-KAKARAS, E., KING, E.J.,
Separation and characterization of alkaline phosphatase isoenzymes from blood and others tissues.
Pure and appl. Chem., 1961, 3, 397.
- 128 . MOSS, D.W., SHAKESPEARE, M., THOMAS, D.M.,
Observations on the heat-stability of alkaline phosphatase isoenzymes in serum.
Clin. Chim. Acta, 1972, 40, 35-41.
- 129 . MURRAY, A.M., FRIEDRICHS, B.,
Inhibition of 5' nucleotidase from Ehrlich ascites-tumour cells by nucleotidase triphosphates.
Biochem. J., 1969, 111, 83-9.
- 130 . NEALE, F.C., CLUBB, J.S., HOTCHKISS, D., POSEN, J.,
Heat stability of human placental alkaline phosphatase
J. Clin.Pathol., 1965, 18, 359.
- 131 . NEWTON, M.A.,
A distinctive fraction of alkaline phosphatase in health and disease.
J. Clin. Pathol., 1966, 19, 491-5.
- 132 . NEWTON, M.A.,
The clinical application of alkaline phosphatase electrophoresis.
Quart. J. Med., 1967, 36, 17.

- 133 . PANDA, N.C., GOEL, B.K., MANSOOR, M., TALWAR, G.P.,
Effect of growth hormone on ribonucleic acid metabolism.
II-Effect of growth-hormone administration on the activities of 5' nucleotidase, adenase, guanase, and xanthine oxidase.
Biochem. J., 1962, 82, 176.
- 134 . PAPPO, E., CHRISTOFOROV, B., PETITE, J.P., BOULU, R.,
ETIENNE, J.P., HOUSSETTE,
Les 5' nucleotidases seriques. Etude expérimentale et clinique.
Act. Hep. Gastroenterol., 1969, 5, B289-B306.
- 135 . PAPPO, E., CHRISTOFOROV, B., PETITE, J.P., BOULU, R.,
ETIENNE, J.P.,
Intérêt clinique du dosage de la 5' nucleotidase serique.
Etude comparative avec les phosphatases alcalines sériques.
Path. Biol., 1969, 17, 479-86.
- 136 . PEACOCK, A.C., REED, R.A., HIGHSMITH, E.M.,
Ethanol fractionation of human serum alkaline phosphatase.
CLin. Chim. Acta, 1963, 8, 914.
- 137 . PEARSE, A.G.E., REIS, J.L.,
The histochemical demonstration of a specific phosphatase : 5' nucleotidase
Biochem. J., 1952, 50, 534.
- 138 . PERSIJN, J.P., VAN DER SLIK, W.,
A new method for determination of serum nucleotidase.
7 th. int. Congr. Clin. Chem., Geneva-Evian 1969.
- 139 . PERSIJN, J.P., VAN DER SLIK, W., KRAMER, K., de RUIJTER, A.,
A new method for the determination of serum nucleotidase : part I.
Klin. Chem. klin. Biochem., 1968, 6, 441-6.
- 140 . PERSIJN, J.P., VAN DER SLIK, W., TIMMER, C.J., BON, A.W.M.,
A new method for the determination of serum nucleotidase. II : A simplified procedure.
Klin. Chem. klin. Biochem., 1969, 7, 199.
- 141 . PERSIJN, J.P., VAN DER SLIK, W., BON, A.W.M.,
A new method for the determination of serum nucleotidase. III : Inhibition of alkaline phosphatase.
Klin. Chem. klin. Biochem., 1969, 7, 493-97.
- 142 . PERSIJN, J.P., VAN DER SLIK, W., TIMMER, C.J.,
A new method for the determination of serum nucleotidase. IV : Evaluation of the conditions for assays using adenosine deaminase.
- 143 . PERSIJN, J.P., VAN DER SLIK, W., ENGELSMAN, E.,
A new method for the determination of serum nucleotidase. V : (final part), Evaluation of the response of serum nucleotidase to bone metastases and therapy in cancer patients.
Klin. Chem. klin. Biochem., 1972, 10, 77-85.

- 144 . PERSIJN, J.P., VAN DER SLIK, W., TIMMER, C.J.,
On the determination of serum 5' nucleotidase activity in the presence
of B glycerophosphate.
Clin. Biochem., 1969, 2, 335-37.
- 145 . PHELAN, M.B., NEALE, G., MOSS, D.W.,
Serial studies of serum alkaline phosphatase and 5' nucleotidase levels
in hepatobiliary disease.
Clin. Chim. Acta, 1971, 32, 95-102.
- 146 . PLAQUET, R., HENNON, G.,
Dosage semi-automatique de la 5' nucleotidase sérique (à paraître)
- 147 . PLETSCH, Q.A., COFFEY, J.W.,
Studies on 5' nucleotidase of rat liver.
Biochem. Biophys. Acta, 1972, 276, 192-205.
- 148 . POSEN, S., NEALE, F.C., CLUBB, J.S.,
Heat inactivation in the study of human alkaline phosphatases.
Ann. of Intern. Med., 1965, 62, 1234.
- 149 . PRICE, C.P., HILL, P.G., SAMMONS, H.G.,
A comparison of two colorimetric procedures for the assay of
5' nucleotidase.
Clin. Chim. Acta, 1971, 33, 260-63.
- 150 . RATLIFF, C.R., HALL, F.F., CULP, T.W., GEVEDON, R.E.,
WESTFALL, C.L.,
The differentiation of hepatic and skeletal alkaline phosphatase by
thermofractionation.
Amer. J. Gastroenterol., 1972, 58, 22-29.
- 151 . REIS, J.L.,
La nucléotidase et sa relation avec la désamination des nucléotides
dans le cœur et dans le muscle.
Bull. Soc. Chim., Biol., 1934, 16, 385-399.
- 152 . REIS, J.L.,
Über die spezifische Phosphatase der Nervengewebe.
Enzymologia, 1937, 2, 110.
- 153 . REIS, J.L.,
Sur la présence della 5' nucléotidase dans les tissus animaux.
Bull. Soc. Chim., Biol., 1940, 22, 36-42.
- 154 . REIS, J.L.,
Studies on 5' nucleotidase and its distribution in human tissues.
Biochem. J., 1950, 46, XXI-XXII.
- 155 . REIS, J.L.,
The specificity of phosphomonoesterases in human tissues.
Biochem. J., 1951, 48, 548-51.

- 156 . RIEDER, S.V., OTERO, M.,
A simplified procedure for the assay of 5' nucleotidase.
Clin. Chem., 1969, 15, 727-9.
- 157 . ROBERTS, W.M.,
Blood phosphatase and Van den Bergh reaction in differentiation of
several types of jaundice.
Brit. M.J., 1933, 1, 734-8.
- 158 . ROBISON, R.,
The significance of phosphoric esters in metabolism.
I vol., The New-York University Press, 1932.
- 159 . ROBSON, E.B., HARRIS, H.,
Genetics of the alkaline phosphatase polymorphism of the human placenta.
Nature, 1965, 207, 1257.
- 160 . SALVETTI, A., AMBROGLI, F., LONI, C., GRASSI, B.,
Significato clinico della 5' nucleotidasi sierica.
Progr. Med. Napoli, 1965, 21, 14-17.
- 161 . SCHLAMOWITZ, M., BODANSKY, O.,
Tissues sources of human alkaline serum phosphatases as determined
by immunochemical procedures.
J. Biol. Chem., 1959, 234, 1433.
- 162 . SCHULLER, E.,
Le dosage biologique des isozymes de la phosphatase alcaline.
Presse méd., 1968, 76, 1122.
- 163 . SCHWARTZ, D.,
Methodes statistiques à l'usage des médecins et des biologistes.
I vol., Flammarion, Paris, 1963.
- 164 . SCHWARTZ, M.K.,
Measurement of 5' nucleotidase activity in serum.
Stand. Methods clin. Chem., 1972, 7, 1-7.
- 165 . SCHWARTZ, M.K., BODANSKY, O.,
Properties of activity of 5' nucleotidase in human serum and applications
in diagnosis.
Am. J. Clin. Pathol., 1964, 42, 572-80.
- 166 . SCHWARTZ, M.K., BODANSKY, O.,
Serum 5' nucleotidase in patients with cancer.
Cancer, 1965, 18, 886-92.
- 167 . SEGAL, A.L., BRENNER, B.M.,
5' nucleotidase of rat liver microsomes.
J. Biol. Chem., 1960, 235, 471-5.

- 168 . SEITANIDIS, B., MOSS, D.W.,
Serum alkaline phosphatase and 5' nucleotidase levels during normal pregnancy.
Clin. Chim. Acta, 1969, 25, 183.
- 169 . SHINKAI, K., AKEDO, H.,
A multienzyme complex in serum of hepatic cancer.
Cancer Res., 1972, 32, 2307-13.
- 170 . SKILLEN, A.W., FIFIELS, R.D., SHERAIDAH, G.S.,
Serum alkaline phosphatase isoenzyme patterns in disease.
Clin. Clin. Acta, 1972, 40, 21-25.
- 171 . SMALL, C.W.,
A study of the heat inactivation of serum alkaline phosphatases by an automated technique.
Clin. Chim. Acta, 1969, 23, 347-52.
- 172 . SMITH, I., LIGHTSTONE, P.J., PERRY, J.D.,
Separation of human tissue alkaline phosphatase by electrophoresis on acrylamide disc gels.
Clin. Chim. Acta, 1968, 19, 499.
- 173 . SMITH, I., LIGHTSTONE, P.J., PERRY, J.D.,
Isoelectric focusing of alkaline phosphatases.
A focusing-disc electrophoresis transfer technique.
Clin. Chim. Acta, 1971, 35, 59-66.
- 174 . SMITH, I., PERRY, J.D., LIGHTSTONE, P.J.,
Disk electrophoresis of alkaline phosphatases from human serum and tissue extracts.
Biochem. J., 1967, 105, 12P.
- 175 . SMITH, K., VARON, H.H., RACE, G.J.,
Serum 5' nucleotidase in patients with tumor in the liver.
Cancer, 1966, 19, 1281-85.
- 176 . SONG, C.S., BODANSKY, O.,
Purification de la 5' nucleotidase du foie humain.
Biochem. J., 1966, 101, 52-60.
- 177 . SONG, C.S., BODANSKY, O.,
Subcellular localisation and properties of 5' nucleotidase in the rat liver.
J. Biol. Chem., 1967, 242, 694.
- 178 . SONG, C.S., TANDLER, B., BODANSKY, O.,
Solubilité de la 5' nucleotidase du foie humain et la réassociation de ses activités dans les vésicules membranaires.
Biochem. Méd., 1967, 1, 100-109.

- 179 . SUNDBLAD, L., WALLIN-NILSSON, M., BROHULT, J.,
Characterization of alkaline phosphatase isoenzymes in serum by agar
gel electrophoresis.
Clin. Chim. Acta, 1973, 45, 219-23.
- 180 . TAN IT-KOON, MOSS, D.W.,
The estimation of intestinal alkaline phosphatase in human blood serum.
Clin. Chim. Acta, 1969, 25, 117-25.
- 181 . TERROINE, T.,
Influence de divers états nutritionnels sur l'activité de la 5' nucléotidase.
Compt. Rend. Acad. Sci., 1961, 252, 3649-51.
- 182 . TYRSTED, G.,
Determination of serum adenosine - 5' phosphatase and alkaline
phosphatase in liver and bone diseases.
Danish Med. Bull., 1962, 9, 46.
- 183 . VAN DER SLIK, W., PERSIJN, J.P., ENGELSMAN, E., RIETHORST, A.
Serum 5' nucleotidase.
Clin. Biochem., 1970, 3, 59-80.
- 184 . VINNICK, I.E., KERN, F., CORLEY, W.D.,
Serum 5' nucleotidase and pericholangitis in patients with chronic
ulcerative colitis.
Gastroenterology, 1963, 45, 492-98.
- 185 . WACHSTEIN, M., MEISEL, E.,
The histochemical distribution of 5' nucleotidase and unspecific alkaline
phosphatase in the testicle of various species and in two human seminomas.
J. Histochem. Cytochem., 1954, 2, 137.
- 186 . WACHSTEIN, M., MEISEL, E.,
Histochemistry of hepatic phosphatases at a physiologic pH with
special reference to the demonstration of bile canuli cells.
Amer. J. Clin. Path., 1957, 27, 13-23.
- 187 . WACHSTEIN, M., SIGISMONDI, R.,
"5'-nucleotidase activity" and "adenosine triphosphatase activity" in
human serums.
Amer. J. Clin. Pathol., 1958, 30, 523-27.
- 188 . WALKER, P.G., BAYLISS, V.,
The determination of 5' nucleotidase in serum.
Enzym. biol. clin., 1966, 6, 182.
- 189 . WARBURG, O.,
Wasserstoffübertragende Fermente.
I vol. W. Saenger ed., Berlin, 1948.

- 190 . WARNOCK, M.L.,
Characterization of tissue and serum alkaline phosphatases.
Clin. Chim. Acta, 1966, 14, 156-65.
- 191 . WARNOCK, M.L., REISMAN, R.,
Variant alkaline phosphatase in human hepatocellular cancers.
Clin. Chim. Acta, 1969, 24, -5.
- 192 . YONG, J.M.,
Origins of serum alkaline phosphatase.
J. Clin. Pathol., 1967, 20, 647.
- 193 . YOUNG, I.I.,
Serum 5' nucleotidase : characterization and evaluation in diseases states
Ann. N. Y. Acad. Sci., 1958, 75, 357-62.

